Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay

Per uso diagnostico *in vitro*.

Solo per esportazione dagli USA.

Informazioni generali **2**
Uso previsto 2
Sommario e spiegazione del test 2
Principi della procedura. 3
Avvertenze e precauzioni 4
Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti 5
Raccolta e conservazione dei campioni 6
Interpretazione del test **20**
Limiti **21**
Risultati attesi con il Tigris DTS System: prevalenza di mRNA dell'HPV ad alto rischio **22**
Prestazioni del test sul Tigris DTS System **23**
Risultati attesi sul Panther System: prevalenza di mRNA dell'HPV ad alto rischio **42**
Prestazioni del Panther System Assay **43**
Bibliografia **60**

Tigris™ DTS™ System

Tigris DTS System **8**
Reagenti e materiali forniti 8
Materiali richiesti ma disponibili separatamente 9
Procedura di analisi con il Tigris DTS System 10
Note procedurali 12

Panther™ System

Panther System **13**
Reagenti e materiali forniti 13
Materiali richiesti ma disponibili separatamente 14
Procedura di analisi del Panther System 15
Note procedurali 17

Informazioni generali

Uso previsto

L'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay è un test di amplificazione degli acidi nucleici *in vitro* per il rilevamento qualitativo dell'RNA messaggero (mRNA) virale E6/E7 dei tipi di Papillomavirus umano (Human Papillomavirus, HPV) ad alto rischio 16, 18 e 45 in campioni prelevati da donne con risultati positivi all'Aptima HPV assay. L'mRNA dell'HPV viene rilevato in campioni citologici cervicali per Pap test in fase liquida raccolti in fiale ThinPrep™ contenenti la soluzione PreservCyt™ prima o dopo l'esecuzione del Pap test oppure in campioni prelevati con il kit di raccolta e trasporto dei campioni cervicali Aptima. I campioni cervicali raccolti nel liquido conservante SurePath possono essere analizzati con l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay. Il test viene utilizzato con il Tigris DTS System e con il Panther System.

Sommario e spiegazione del test

Il cancro cervicale è uno dei cancri più diffusi tra le donne nel mondo. L'HPV è l'agente eziologico responsabile per più del 99% di tutti i casi di cancro cervicale.[1,2,3] L'HPV è un virus a DNA comunemente trasmesso per via sessuale che comprende più di 100 genotipi.[4]

Il genoma virale HPV è un DNA circolare a doppio filamento, di lunghezza pari a circa 7900 coppie di basi. Il genoma presenta otto cornici sovrapposte di lettura aperta. Sono presenti sei geni precoci (E), due geni tardivi (L) e una lunga regione di controllo non tradotta. I geni tardivi L1 e L2 codificano per le proteine strutturali del capside maggiore e minore. I geni precoci regolano la replicazione virale dell'HPV. I geni E6 e E7 dei genotipi di HPV ad alto rischio sono notoriamente oncogeni. Le proteine espresse da mRNA policistronico E6-E7 alterano le funzioni cellulari della proteina p53 e della proteina del retinoblastoma, con conseguente deterioramento dei punti di controllo del ciclo cellulare e instabilità genomica.[5,6]

Quattordici genotipi di HPV sono considerati patogenici o ad alto rischio per la progressione della cervicopatia.[7] Svariati studi hanno collegato i genotipi 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68 alla progressione della malattia.[2,5,8] Le donne con infezione persistente causata da uno di questi genotipi sono a maggior rischio di sviluppare grave displasia o carcinoma cervicale.[7,9]

Gli studi hanno dimostrato che i diversi tipi di HPV ad alto rischio conferiscono diversi livelli di rischio per lo sviluppo di displasia o carcinoma cervicale grave. In tutto il mondo, i tipi 16, 18 e 45 dell'HPV sono associati a circa l'80% di tutti i tumori invasivi della cervice.[2,10] Questi tre tipi si ritrovano nel 75% di tutti i carcinomi squamosi e il tipo 16 è il principale responsabile di queste infezioni (85%). Negli adenocarcinomi, i tipi 16, 18 e 45 dell'HPV si ritrovano nell'80-94% dei casi e i tipi 18 e 45 sono i responsabili di quasi la metà di queste infezioni.[2,10] È stato riportato che la presenza del tipo 18 dell'HPV nello stadio iniziale del cancro è associata a una prognosi infausta.[11] I tipi 18 e 45 dell'HPV sono sottostimati rispetto al loro reale coinvolgimento nella comparsa delle lesioni precancerose, che possono essere causate dalla presenza di lesioni occulte del canale cervicale inaccessibile all'esame colposcopico.[12] Nelle donne infette dai tipi 16 e/o 18 dell'HPV, il rischio cumulativo di sviluppare una cervicopatia è 10 volte superiore se paragonato al rischio di sviluppare la malattia dovuto ad altri tipi di HPV ad alto rischio.[13,14,15]

Principi della procedura

L'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay prevede tre passaggi principali, che si svolgono in una singola provetta: cattura del target, amplificazione del target con amplificazione mediata da trascrizione (Trancription-Mediated Amplification, TMA)[16] e rilevamento dei prodotti dell'amplificazione (ampliconi) mediante analisi con protezione dell'ibridizzazione (Hybridization Protection Assay, HPA).[17] Il test incorpora un controllo interno (Internal Control, IC) per il monitoraggio della cattura, dell'amplificazione e del rilevamento dell'acido nucleico, nonché per l'individuazione di eventuali errori dell'operatore o dello strumento.

I campioni vengono raccolti o trasferiti in una provetta contenente un terreno di trasporto dei campioni (Specimen Transport Medium, STM) che provoca la lisi delle cellule, libera l'mRNA e lo protegge dalla degradazione durante la conservazione. Durante l'esecuzione dell'Aptima HPV 16 18/45 assay, l'mRNA target viene isolato dal campione mediante oligomeri di cattura legati a microparticelle magnetiche. Gli oligomeri di cattura contengono sequenze complementari a regioni specifiche delle molecole target dell'mRNA dell'HPV, oltre ad un filamento di residui di deossiadenosina. Durante la fase di ibridizzazione, le regioni specifiche delle sequenze degli oligomeri di cattura si legano a regioni specifiche della molecola target di mRNA dell'HPV. Il complesso oligomero di cattura-target viene quindi catturato fuori dalla soluzione diminuendo la temperatura di reazione fino alla temperatura ambiente. Questa riduzione della temperatura permette che si verifichi l'ibridizzazione fra la regione della deossiadenosina sull'oligomero di cattura e le molecole di poli-deossitimidina unite con legame covalente alle particelle magnetiche. Le microparticelle, incluse le molecole target di mRNA dell'HPV catturate e legate ad esse, vengono attirate sul lato della provetta di reazione usando dei magneti e il surnatante viene aspirato. Le particelle vengono lavate per rimuovere la matrice residua di campione che potrebbe contenere inibitori dell'amplificazione.

Una volta completata la cattura del target, l'mRNA dell'HPV viene amplificato mediante TMA: un metodo di amplificazione degli acidi nucleici basato su trascrizione che utilizza due enzimi, la trascrittasi inversa del virus della leucemia murina di Moloney (MMLV) e la polimerasi dell'RNA T7. La trascrittasi inversa viene usata per generare una copia del DNA della sequenza dell'mRNA target contenente una sequenza promotrice per la polimerasi dell'RNA T7. La polimerasi dell'RNA T7 produce copie multiple di amplicon di RNA dal modello della copia di DNA.

L'amplicon viene individuato mediante HPA mediante sonde di acido nucleico a singolo filamento con marcatori chemiluminescenti che sono complementari all'amplicon. Le sonde di acido nucleico marcate si ibridizzano specificamente con l'amplicon. Il reagente di selezione distingue le sonde ibridizzate da quelle non ibridizzate inattivando il marcatore sulle sonde non ibridizzate. Durante la fase di rilevamento, la luce emessa dagli ibridi marcati RNA-DNA viene misurata in un luminometro come segnali fotonici denominati unità di luce relativa (Relative Light Units, RLU). I risultati finali del test vengono interpretati in base al rapporto segnale/cutoff dell'analita (signal-to-cutoff, S/CO).

Ad ogni reazione viene aggiunto un IC mediante il reagente di cattura del target L'IC esegue il monitoraggio delle fasi del test per la cattura, l'amplificazione e il rilevamento del target. Il test cinetico doppio (Dual Kinetic Assay, DKA) è il metodo usato per differenziare i segnali dell'HPV e il segnale dell'IC.[18] Gli ampliconi dell'IC e dell'HPV 16 vengono rilevati dalle sonde con cinetica di emissione luminosa rapida (segnale "flash"). In ogni reazione il segnale dell'IC viene distinto dal segnale dell'HPV 16 dall'intensità dell'emissione luminosa. Gli ampliconi specifici dell'HPV 18 e 45 vengono rilevati utilizzando delle sonde con cinetica di emissione luminosa più lenta (segnale "glow").

Avvertenze e precauzioni

A. Per uso diagnostico *in vitro*.

B. Per ulteriori avvertenze e precauzioni specifiche relative alla strumentazione, consultare il *Manuale d'uso del Tigris DTS System* (Tigris DTS System Operator's Manual) oppure il *Manuale per l'operatore del Panther System* (Panther System Operator's Manual).

Pertinenti al laboratorio

C. Usare solo contenitori da laboratorio monouso forniti o indicati in modo specifico come monouso.

D. Adottare le consuete precauzioni di laboratorio. Non mangiare, bere o fumare nelle aree di lavoro. Quando si maneggiano campioni e reagenti del kit, indossare guanti monouso senza talco, occhiali protettivi e camici da laboratorio. Lavarsi accuratamente le mani dopo aver maneggiato campioni e reagenti del kit.

E. **Avvertenza - Sostanze irritanti e corrosive:** evitare il contatto dell'Auto Detect 1 e dell'Auto Detect 2 con la pelle, gli occhi e le mucose. Se questi liquidi vengono a contatto con la pelle o con gli occhi, risciacquare con acqua le zone colpite. Se questi liquidi si rovesciano, diluire il liquido rovesciato con acqua prima di asciugarlo con un panno.

F. Le superfici di lavoro, le pipette e le altre apparecchiature devono essere decontaminate regolarmente con una soluzione di ipoclorito di sodio in concentrazioni comprese fra 2,5% e 3,5% (da 0,35 M a 0,5 M). Per ulteriori informazioni, consultare la *Procedura di analisi con il Tigris DTS System* oppure la *Procedura di analisi con il Panther System*.

Pertinenti ai campioni

G. Mantenere le corrette condizioni di temperatura durante la spedizione e la conservazione del campione, per assicurarne l'integrità. La stabilità del campione non è stata valutata in condizioni di spedizione e conservazione diverse da quelle raccomandate.

H. Le date di scadenza indicate sui kit e nelle provette di raccolta/trasferimento si riferiscono al centro di trasferimento e non al laboratorio di analisi. I campioni raccolti/trasferiti in qualsiasi momento precedente a queste date di scadenza sono validi per l'analisi purché siano stati trasportati e conservati secondo le istruzioni incluse nel rispettivo foglio illustrativo, anche se queste date di scadenza sono state superate.

I. I campioni potrebbero essere infettivi. Nell'eseguire questo test, adottare le precauzioni universali. Metodi adeguati di manipolazione e smaltimento vanno stabiliti dal direttore del laboratorio. L'esecuzione di questa procedura è consentita solo a personale adeguatamente addestrato nella manipolazione di materiali infettivi.

J. Evitare la contaminazione crociata durante i procedimenti di manipolazione dei campioni. Assicurarsi che i contenitori dei campioni non vengano in contatto tra di loro ed eliminare i materiali usati senza farli passare sopra i contenitori aperti. Cambiare i guanti se vengono a contatto con i campioni.

K. In determinate condizioni, il liquido può fuoriuscire forando i tappi delle provette. Per ulteriori informazioni, consultare la *Procedura di analisi con il Tigris DTS System* oppure la *Procedura di analisi con il Panther System*.

L. I campioni prelevati con il kit di raccolta e trasporto dei campioni cervicali Aptima (Cervical Specimen Collection and Transport, CSCT) e i campioni per citologia in fase liquida ThinPrep devono essere rifiutati se nella provetta del campione è presente il dispositivo di prelievo.

M. I campioni per citologia in fase liquida SurePath devono essere rifiutati se nella fiala non è presente il dispositivo di prelievo.

Pertinenti al test

N. Conservare i reagenti alle temperature specificate. L'uso di reagenti conservati in modo erroneo può influire sulle prestazioni del test.

O. Evitare la contaminazione microbica e da ribonucleasi dei reagenti.

P. Non usare il kit dopo la data di scadenza.

Q. Non scambiare, mescolare o combinare reagenti o calibratori provenienti da kit con numeri di lotto diversi.

R. I liquidi dell'Aptima assay, il conservante del liquido del sistema Aptima (solo per il Tigris DTS System) e i reagenti Auto Detect non fanno parte del lotto master; è possibile utilizzare qualsiasi lotto.

S. Per ottenere risultati accurati del test, è necessaria una miscelazione accurata dei reagenti del test.

T. Usare puntali con tappi idrofobi.

Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti

Non utilizzare i reagenti oltre la data di scadenza indicata sulle fiale. Di seguito sono riportate ulteriori istruzioni sulla conservazione.

A. Alla consegna, conservare i seguenti reagenti a 2 °C – 8 °C (in frigorifero):

Reagente di amplificazione HPV 16 18/45.

Reagente enzimatico HPV 16 18/45.

Reagente sonda HPV 16 18/45.

Reagente di controllo interno HPV 16 18/45.

Calibratori positivi HPV 16 18/45 e calibratori negativi HPV 16 18/45.

B. Conservare i seguenti reagenti a temperatura compresa tra 15 °C e 30 °C (temperatura ambiente):

Soluzione di ricostituzione per il reagente di amplificazione HPV 16 18/45.

Soluzione di ricostituzione per il reagente enzimatico HPV 16 18/45.

Soluzione di ricostituzione per il reagente sonda HPV 16 18/45.

Reagente di cattura del target HPV 16 18/45.

Reagente di selezione HPV 16 18/45.

Soluzione di lavaggio.

Reagente oleoso.

Tampone per fluido di disattivazione.

Reagente Auto Detect 1.

Reagente Auto Detect 2.

Conservante per il liquido dell'Aptima System (solo Tigris DTS System).

C. Dopo la ricostituzione, i seguenti reagenti sono stabili per 30 giorni se conservati a temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C:

Reagente di amplificazione HPV 16 18/45.

Reagente enzimatico HPV 16 18/45.

Reagente sonda HPV 16 18/45.

D. Il reagente di cattura del target di lavoro (working Target Capture Reagent, wTCR) è stabile per 30 giorni se conservato a 15 °C – 30 °C. Non refrigerare.

E. Eliminare dopo 30 giorni o dopo la data di scadenza del lotto master (la prima delle due evenienze) tutti i reagenti ricostituiti e wTCR non utilizzati.

F. I reagenti dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay sono stabili per un totale di 48 ore se conservati a bordo del Tigris DTS System.

G. I reagenti dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay sono stabili per un totale di 72 ore se conservati a bordo del Panther System.

H. Il reagente sonda e il reagente sonda ricostituito sono fotosensibili. Conservare i reagenti al riparo dalla luce.

I. Non congelare i reagenti.

Raccolta e conservazione dei campioni

A. Raccolta e trattamento dei campioni

Campioni per citologia in fase liquida ThinPrep

1. Raccogliere i campioni cervicali nelle fiale per Pap test ThinPrep contenenti la soluzione PreservCyt utilizzando uno spazzolino per prelievo endocervicale o un campionamento combinato con spatola e cytobrush in base alle istruzioni del produttore.
2. Prima o dopo il trattamento con il ThinPrep 2000 System o con il ThinPrep 3000 System, trasferire 1 ml di campione per citologia in fase liquida ThinPrep in una provetta di trasferimento del campione Aptima in base alle istruzioni riportate nel foglietto illustrativo del kit di trasferimento dei campioni Aptima.

Campioni per citologia in fase liquida SurePath

1. Raccogliere un campione per citologia in fase liquida SurePath seguendo le istruzioni per l'uso del Pap test SurePath e/o del PrepStain System.
2. Trasferire il campione per citologia in fase liquida SurePath all'interno di una provetta di trasferimento del campione Aptima secondo le istruzioni riportate nel foglietto illustrativo del kit di trasferimento dei campioni Aptima.

Campioni del kit di raccolta e trasporto di campioni cervicali Aptima

Per prelevare i campioni attenersi alle istruzioni per l'uso del kit CSCT.

B. Trasporto e conservazione prima dell'analisi

Campioni per citologia in fase liquida ThinPrep

1. Trasportare i campioni per citologia in fase liquida ThinPrep a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C.
2. I campioni devono essere trasferiti nelle provette di trasferimento dei campioni Aptima entro 105 giorni dalla data di raccolta.

3. Prima del trasferimento, i campioni per citologia in fase liquida ThinPrep devono essere conservati a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C e non devono essere esposti per oltre 30 giorni a temperature superiori a 8 °C.
4. I campioni per citologia in fase liquida ThinPrep trasferiti in provette di trasferimento dei campioni Aptima possono essere conservati a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C per un massimo di 60 giorni.
5. Se si richiede un periodo di conservazione più lungo, il campione per citologia in fase liquida ThinPrep o il campione per citologia in fase liquida ThinPrep diluito nella provetta di trasporto del campione può essere conservato tra -20 °C e -70 °C per un massimo di 24 mesi.

Campioni per citologia in fase liquida SurePath

1. Trasportare i campioni per citologia in fase liquida SurePath a una temperatura compresa tra 2 °C e 25 °C.
2. I campioni devono essere trasferiti nelle provette di trasferimento dei campioni Aptima entro 7 giorni dalla data di raccolta.
3. Prima del trasferimento, i campioni per citologia in fase liquida SurePath devono essere conservati a una temperatura compresa tra 2 °C e 25 °C.
4. I campioni per citologia in fase liquida SurePath trasferiti in provette di trasferimento dei campioni Aptima possono essere conservati a una temperatura compresa tra 2 °C e 25 °C per un massimo di 7 giorni.
5. I campioni SurePath trasferiti vanno trattati con la soluzione di trasporto Aptima prima di essere analizzati con l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay. I campioni trattati possono essere conservati tra 2 °C e 8 °C fino a 17 giorni prima di essere analizzati con l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay. Per ulteriori dettagli, consultare il foglietto illustrativo del kit di trasferimento dei campioni.

Campioni del kit di raccolta e trasporto di campioni cervicali Aptima

1. Trasportare e conservare i campioni a 2 °C – 30 °C per un massimo di 60 giorni.
2. Se si richiede un periodo di conservazione più lungo, i campioni prelevati con il kit di trasporto possono essere conservati tra -20 °C e -70 °C per un massimo di 24 mesi.

C. Conservazione dei campioni dopo l'analisi

1. I campioni analizzati devono essere conservati su una rastrelliera, in posizione verticale.
2. Le provette dei campioni vanno coperte con una barriera di plastica o di alluminio nuova e pulita.
3. Se i campioni analizzati devono essere congelati o spediti, togliere i tappi perforabili dalle provette dei campioni e sostituirli con nuovi tappi non perforabili. Se i campioni devono essere spediti per essere sottoposti ad analisi in un'altra struttura, occorre mantenere le temperature specificate. Prima di togliere i tappi dalle provette dei campioni precedentemente analizzati, occorre centrifugare le provette per 5 minuti ad una forza centrifuga relativa (Relative Centrifugal Force, RCF) di 420 per far scendere tutto il liquido sul fondo della provetta.

Nota - *La spedizione dei campioni deve essere effettuata in conformità ai regolamenti applicabili relativi al trasporto locale, nazionale e internazionale.*

Tigris DTS System

Reagenti e materiali forniti

Nota: per informazioni sulle indicazioni di pericolo e i consigli di prudenza che possono essere associati ai reagenti, consultare la libreria delle schede di sicurezza (Safety Data Sheet Library) all'indirizzo www.hologic.com/sds.

Kit Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, 100 test (3 scatole) N. di cat. 303234 o 303184

I calibratori possono essere acquistati separatamente. Vedere sotto i numeri di catalogo della singola scatola.

Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, Scatola refrigerata (conservare tra 2 °C e 8 °C dal momento del ricevimento)

Simbolo	Componente	Quantità
A	**Reagente di amplificazione HPV 16 18/45** *Acidi nucleici non infettivi liofilizzati in soluzione tamponata contenente < 5% di agente strutturante.*	1 fiala
E	**Reagente enzimatico HPV 16 18/45** *Trascrittasi inversa e polimerasi dell'RNA liofilizzate in soluzione tamponata HEPES contenente < 10% di reagente strutturante.*	1 fiala
P	**Reagente sonda HPV 16 18/45** *Sonde di DNA non infettive chemioluminescenti (< 500 ng/fiala) liofilizzate in soluzione tamponata con succinato contenente < 5% di detergente.*	1 fiala
IC	**Reagente di controllo interno HPV 16 18/45** *Trascritto di RNA non infettivo in soluzione tamponata contenente < 5% di detergente.*	1 fiala

Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, Scatola a temperatura ambiente (conservare tra 15 °C e 30 °C dal momento del ricevimento)

Simbolo	Componente	Quantità
AR	**Soluzione di ricostituzione per il reagente di amplificazione HPV 16 18/45** *Soluzione acquosa contenente conservanti.*	1 fiala
ER	**Soluzione di ricostituzione per il reagente enzimatico HPV 16 18/45** *Soluzione tamponata con HEPES contenente un tensioattivo e glicerolo.*	1 fiala
PR	**Soluzione di ricostituzione per il reagente sonda HPV 16 18/45** *Soluzione tamponata con succinato contenente < 5% di detergente.*	1 fiala
S	**Reagente di selezione HPV 16 18/45** *600 mM di soluzione tamponata con borato contenente tensioattivo.*	1 fiala
TCR	**Reagente di cattura del target HPV 16 18/45** *Acido nucleico non infettivo in soluzione tamponata contenente una fase solida (< 0,5 mg/ml).*	1 fiala
	Collari per ricostituzione	3
	Foglio dei codici a barre dei lotti master	1 foglio

Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, Scatola dei calibratori (N. di cat. 303235 o 303183) (conservare tra 2 °C e 8 °C dal momento del ricevimento)

Simbolo	Componente	Quantità
PCAL1	**Calibratore positivo 1 HPV 16 18/45** *Trascritto in vitro di HPV 18 non infettivo, in concentrazione di 750 copie per ml, in soluzione tamponata contenente < 5% di detergente*.	5 fiale
PCAL2	**Calibratore positivo 2 HPV 16 18/45** *Trascritto in vitro di HPV 16 non infettivo, in concentrazione di 1.000 copie per ml, in soluzione tamponata contenente < 5% di detergente*.	5 fiale
NCAL	**Calibratore negativo HPV 16 18/45** *Soluzione tamponata contenente < 5% di detergente.*	5 fiale

Materiali richiesti ma disponibili separatamente

Nota - *Salvo altrimenti specificato, per i materiali disponibili presso Hologic sono indicati i rispettivi numeri di catalogo.*

	N. di cat.
Tigris DTS System	105118
Kit di analisi del Tigris DTS System	301191
Unità multiprovette (Multi-Tube Unit, MTU)	*104772-02*
Sacca dei puntali delle MTU da smaltire	*900907*
Deflettori di rifiuti delle MTU	*900931*
Coperchi dei rifiuti delle MTU	*105523*
Kit di liquidi per l'Aptima assay	302382
(soluzione di lavaggio Aptima, tampone per liquido di disattivazione Aptima e reagente oleoso Aptima)	
Kit Auto Detect Aptima	301048
Kit del conservante per il liquido dell'Aptima System	302380
Puntali, 1.000 µl conduttivi, rilevatori di liquido	10612513 (Tecan)
Kit di trasferimento dei campioni Aptima	301154C
Kit di raccolta e trasporto di campioni cervicali Aptima	302657
Tappi perforabili Aptima	105668
Tappi non perforabili di ricambio	103036A
Tappi di ricambio per i kit da 100 test:	
Soluzioni di ricostituzione per reagente di amplificazione e reagente sonda	*CL0041*
Soluzione di ricostituzione per reagente enzimatico	*CL0041*
Reagente di cattura del target e reagente di selezione	*501604*
Candeggina (soluzione di ipoclorito di sodio, al 5% o 0,7 M minimo)	—
Acqua per il Tigris DTS System	—
Consultare il Manuale d'uso del Tigris DTS System (Tigris DTS System Operator's Manual) per i dati tecnici	
Guanti monouso	—
Kit della soluzione di trasporto Aptima (solo per i campioni SurePath)	303658

Materiali opzionali

	N. di cat.
Potenziatore di candeggina per pulizia	302101

Procedura di analisi con il Tigris DTS System

Nota - *Consultare il Manuale d'uso del Tigris DTS System (Tigris DTS System Operator's Manual) per ulteriori informazioni procedurali su questo sistema.*

A. Preparazione dell'area di lavoro.

Pulire le superfici di lavoro dove verranno preparati i reagenti. Passare le superfici di lavoro e i pipettatori con un panno imbevuto di soluzione di ipoclorito di sodio a concentrazioni comprese fra 2,5% e 3,5% (da 0,35 M a 0,5 M). Lasciare la soluzione a contatto con le superfici e i pipettatori per almeno 1 minuto, quindi risciacquare con acqua. Non lasciare asciugare la soluzione di ipoclorito di sodio. Coprire la superficie del banco sul quale verranno preparati i reagenti con delle apposite coperture assorbenti pulite, con retro in plastica.

B. Preparazione del reagente di un nuovo kit.

Nota - *La ricostituzione dei reagenti deve essere eseguita prima di iniziare qualsiasi lavoro sul Tigris DTS System.*

1. Per ricostituire i reagenti di amplificazione, enzimatico e sonda, unire il contenuto dei flaconi di reagente liofilizzato alla soluzione di ricostituzione. Se le soluzioni di ricostituzione sono state refrigerate, prima dell'uso lasciare che raggiungano la temperatura ambiente.
   a. Abbinare ciascuna soluzione di ricostituzione al rispettivo reagente liofilizzato.
   b. Controllare i numeri di lotto sul foglio dei codici a barre dei lotti master per assicurarsi di abbinare i reagenti appropriati.
   c. Aprire la fiala di reagente liofilizzato e inserire l'estremità indentata del collare di ricostituzione nell'apertura della fiala (Figura 1, Passaggio 1).
   d. Aprire il flacone di soluzione di ricostituzione corrispondente e disporne il tappo su una superficie di lavoro pulita e coperta.
   e. Tenendo sul banco il flacone della soluzione, inserire l'altra estremità del collare di ricostituzione nell'apertura del flacone (Figura 1, Passaggio 2).
   f. Capovolgere lentamente i flaconi collegati. Far scendere la soluzione dal flacone di ricostituzione nella fiala di vetro del reagente (Figura 1, Passaggio 3).
   g. Agitare roteando delicatamente la soluzione nella fiala per miscelarla con cura. Nel roteare la fiala, evitare la formazione di schiuma (Figura 1, Passaggio 4).
   h. Attendere che il reagente liofilizzato si dissolva nella soluzione, quindi capovolgere di nuovo i flaconi collegati tra loro, mantenendo un'inclinazione di 45° per ridurre al minimo la formazione di schiuma (Figura 1, Passaggio 5). Lasciare che tutto il liquido ritorni nel flacone di plastica.
   i. Rimuovere il collare di ricostituzione e la fiala (Figura 1, Passaggio 6).
   j. Rimettere il tappo sulla bottiglia di plastica. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data di ricostituzione (Figura 1, Passaggio 7).
   k. Gettare sia il collare di ricostituzione che la fiala (Figura 1, Passaggio 8).

Avvertenza - *Evitare la formazione di schiuma durante la ricostituzione dei reagenti. La schiuma pregiudica la sensibilità di rilevamento dei livelli nel Tigris DTS System.*

Nota - *Miscelare a fondo i reagenti di amplificazione, enzimatico, sonda e selezione capovolgendo delicatamente i flaconi prima di caricarli nel sistema. Evitare la formazione di schiuma quando si capovolgono i reagenti.*

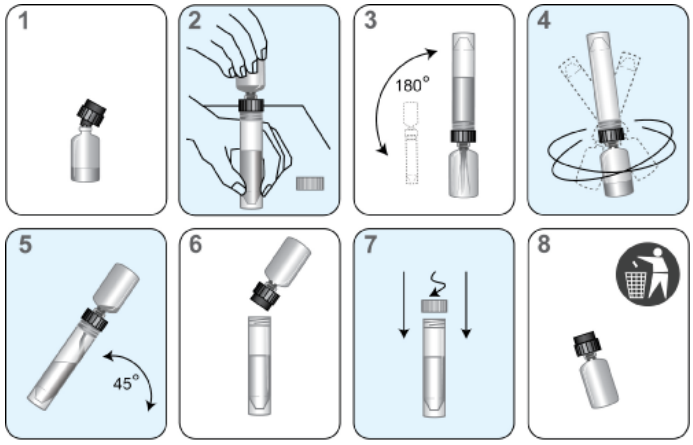

Figura 1. Processo di ricostituzione con il Tigris DTS System

2. Preparare il reagente di cattura del target di lavoro (working Target Capture Reagent, wTCR).
   a. Abbinare i flaconi di TCR e di IC.
   b. Controllare i numeri di lotto dei reagenti sul foglio dei codici a barre dei lotti master per assicurarsi che i reagenti siano abbinati correttamente tra loro.
   c. Aprire il flacone di TCR e disporne il tappo su una superficie di lavoro pulita e coperta.
   d. Togliere il tappo dal flacone di IC e versare l'intero contenuto nel flacone di TCR. E' normale che nel flacone di controllo interno resti una piccola quantità di liquido.
   e. Chiudere con il tappo il flacone di TCR e roteare con attenzione la soluzione per miscelare il contenuto. Evitare la formazione di schiuma durante questo passaggio.
   f. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data corrente.
   g. Eliminare il flacone e il tappo dell'IC.
   h. Nel wTCR può formarsi del precipitato che potrebbe produrre risultati non validi a causa di errori di verifica del volume. Il precipitato può essere dissolto riscaldando il wTCR a 42 °C – 60 °C per un massimo di 90 minuti. Prima di usare il wTCR, lasciare che raggiunga la temperatura ambiente. Non utilizzare se il precipitato persiste.
3. Preparazione del reagente di selezione:
   a. Verificare il numero di lotto del reagente sul foglio dei codici a barre dei lotti master per assicurarsi che appartenga al kit.
   b. Se il reagente di selezione contiene del precipitato, riscaldarlo a 60 °C ± 1 °C per un massimo di 45 minuti per facilitare la dissoluzione del precipitato. Miscelare con attenzione il flacone ogni 5 – 10 minuti. Prima di usare il reagente di selezione, lasciare che raggiunga la temperatura ambiente. Non usarlo se persistono precipitato o torbidità.

Nota - *Miscelare accuratamente tutti i reagenti capovolgendoli con attenzione prima di caricarli sul sistema. Evitare la formazione di schiuma quando si capovolgono i reagenti.*

C. Preparazione di reagenti precedentemente ricostituiti:
1. I reagenti sonda, di amplificazione ed enzimatico precedentemente ricostituiti devono essere portati a temperatura ambiente (temperatura compresa tra 15 °C e 30 °C) prima di iniziare il test.
2. Se il reagente sonda contiene precipitato che non ritorna in soluzione a temperatura ambiente, riscaldare a non oltre 60 °C per 1 – 2 minuti. Non usare il reagente se sono presenti precipitato o torbidità.

3. Se il wTCR contiene precipitato, riscaldarlo a 42 °C – 60 °C fino a 90 minuti. Prima di usare il wTCR, lasciare che raggiunga la temperatura ambiente. Non utilizzare se il precipitato persiste.
4. Se il reagente di selezione contiene del precipitato, riscaldarlo a 60 °C ± 1 °C per un massimo di 45 minuti per facilitare la dissoluzione del precipitato. Miscelare con attenzione il flacone ogni 5 – 10 minuti. Prima di usare il reagente di selezione, lasciare che raggiunga la temperatura ambiente. Non usarlo se persistono precipitato o torbidità.
5. Miscelare accuratamente ciascun reagente capovolgendolo con attenzione prima di caricarlo sul sistema. Evitare la formazione di schiuma quando si capovolgono i reagenti.
6. Non riempire al massimo i flaconi dei reagenti. Il Tigris DTS System riconosce e rifiuta i flaconi riempiti al massimo.

D. Manipolazione dei campioni:

1. Prima dell'analisi, lasciare che i calibratori e i campioni raggiungano la temperatura ambiente.
2. **Non mettere i campioni sul vortex.**
3. Ispezionare le provette dei campioni prima di caricarle sulla rastrelliera. Se una provetta del campione contiene delle bolle o presenta un volume inferiore a quello tipicamente osservato, centrifugarla per 5 minuti a 420 RCF per assicurarsi che non ci sia del liquido nel tappo.

Nota - *La mancata osservanza del passaggio 3 potrebbe determinare un traboccamento di liquido dal tappo della provetta del campione.*

E. Preparazione del sistema:

Impostare il sistema e la lista di lavoro in base alle istruzioni contenute nel *Manuale d'uso del Tigris DTS System* (Tigris DTS System Operator's Manual) e nella *Note procedurali* seguente sezione.

Note procedurali

A. Calibratori:

1. Ogni lista di lavoro deve contenere 2 replicati del calibratore negativo e di ciascun calibratore positivo. Per poter utilizzare correttamente l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay Software, il calibratore negativo deve trovarsi nella prima posizione della provetta della prima rastrelliera della lista di lavoro, il calibratore positivo 1 deve trovarsi nella seconda posizione della provetta della prima rastrelliera della lista di lavoro e il calibratore positivo 2 deve trovarsi nella terza posizione della provetta della prima rastrelliera della lista di lavoro.
2. Se si tenta di pipettare più di due replicati da una provetta di calibratore, è possibile che si verifichino errori di volume insufficiente.
3. I calibratori devono essere utilizzati con il corrispondente lotto master di reagenti. L'operatore deve controllare che venga utilizzato il lotto di calibratori corretto con il corrispondente lotto master dei reagenti del kit, come indicato sul foglio dei codici a barre dei lotti maser. Quando si ordinano altri calibratori, è necessario indicare il numero di lotto appropriato.

B. Temperatura.

Per temperatura ambiente si intende un range di temperatura da 15 °C a 30 °C.

C. Talco dei guanti.

Come in qualsiasi sistema di reazione, il talco eccessivo in alcuni guanti può causare la contaminazione di provette aperte. Si consigliano guanti privi di talco.

Panther System

Reagenti e materiali forniti

Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, 100 test (3 scatole) N. di cat. 303236 o 303241

I calibratori possono essere acquistati separatamente. Vedere qui sotto i numeri di catalogo delle singole scatole.

Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, Scatola refrigerata (conservare tra 2 °C e 8 °C dal momento del ricevimento)

Simbolo	Componente	Quantità
A	**HPV 16 18/45 Reagente di amplificazione** *Acidi nucleici non infettivi liofilizzati in soluzione tamponata contenente < 5% di agente strutturante.*	1 flacone
E	**HPV 16 18/45 Reagente enzimatico** *Trascrittasi inversa e polimerasi dell'RNA liofilizzate in soluzione tamponata HEPES contenente < 10% di reagente strutturante.*	1 flacone
P	**HPV 16 18/45 Reagente sonda** *Sonde di DNA non infettive chemioluminescenti (< 500 ng/flacone) liofilizzate in soluzione tamponata con succinato contenente < 5% di detergente.*	1 flacone
IC	**HPV 16 18/45 Reagente di controllo interno** *Trascritto di RNA non infettivo in soluzione tamponata contenente < 5% di detergente.*	1 flacone

Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, Scatola a temperatura ambiente (conservare tra 15 °C e 30 °C dal momento del ricevimento)

Simbolo	Componente	Quantità
AR	**HPV 16 18/45 Soluzione di ricostituzione del reagente di amplificazione** *Soluzione acquosa contenente conservanti.*	1 flacone
ER	**HPV 16 18/45 Soluzione di ricostituzione del reagente enzimatico** *Soluzione tamponata con HEPES contenente un tensioattivo e glicerolo.*	1 flacone
PR	**HPV 16 18/45 Soluzione di ricostituzione del reagente sonda** *Soluzione tamponata con succinato contenente < 5% di detergente.*	1 flacone
S	**HPV 16 18/45 Reagente di selezione** *600 mM di soluzione tamponata con borato contenente tensioattivo.*	1 flacone
TCR	**HPV 16 18/45 Reagente di cattura del target** *Acido nucleico non infettivo in soluzione tamponata contenente fase solida (< 0,5 mg/ml).*	1 flacone
	Collari per ricostituzione	3
	Foglio dei codici a barre dei lotti master	1 foglio

Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, Scatola dei calibratori (N. di cat. 303235 o 303183) (conservare tra 2 °C e 8 °C dal momento del ricevimento)

Simbolo	Componente	Quantità
PCAL1	**HPV 16 18/45 Calibratore positivo 1** *Trascritto in vitro di HPV 18 non infettivo alla concentrazione di 750 copie per ml in soluzione tamponata contenente < 5% di detergente*.	5 flaconi
PCAL2	**HPV 16 18/45 Calibratore positivo 2** *Trascritto in vitro di HPV 16 non infettivo alla concentrazione di 1.000 copie per ml in soluzione tamponata contenente < 5% di detergente*.	5 flaconi
NCAL	**HPV 16 18/45 Calibratore negativo** *Soluzione tamponata contenente < 5% di detergente.*	5 flaconi

Materiali richiesti ma disponibili separatamente

Nota - *Salvo altrimenti specificato, per i materiali disponibili presso la Hologic sono indicati i rispettivi numeri di catalogo.*

	N. di cat.
Panther System	303095
Kit procedurale Panther	303096
Kit di fluidi per dosaggio Aptima (soluzion e di lavaggio Aptima, tampone Aptima per liquidi di disattivazione e reagente oleoso Aptima)	*303014*
Kit Auto Detect Aptima	*303013*
Unità multiprovetta (Multi-Tube Units, MTU)	*104772-02*
Kit dei sacchi di rifiuti Panther	*902731*
Coperchio del contenitore di scarico Panther	*902714*
Puntali, 1.000 µl conduttivi, rilevatori di liquido	10612513 (Tecan)
Kit di trasferimento dei campioni Aptima	301154C
Kit di raccolta e trasporto di campioni cervicali Aptima	302657
Tappi perforabili Aptima	105668
Tappi non perforabili di ricambio	103036A
Tappi di ricambio per i kit da 100 test:	
Soluzioni di ricostituzione per reagente di amplificazione e reagente sonda	*CL0041*
Soluzione di ricostituzione per reagente enzimatico	*CL0041*
Reagente di cattura del target e reagente di selezione	*501604*
Candeggina, soluzione di ipoclorito di sodio al 5% o 0,7 M minimo	—
Guanti monouso	—
Kit della soluzione di trasporto Aptima (solo per i campioni SurePath)	303658

Materiali opzionali

	N. di cat.
Potenziatore di candeggina per pulizia	302101

Procedura di analisi del Panther System

Nota - *Per ulteriori informazioni procedurali per il sistema Panther System, vedere il Manuale per l'operatore del Panther System (Panther System Operator's Manual).*

A. Preparazione dell'area di lavoro

Pulire le superfici di lavoro dove verranno preparati i reagenti e i campioni. Passare sulle superfici di lavoro una soluzione di ipoclorito di sodio al 2,5% – 3,5% (da 0,35 M a 0,5 M). Lasciare la soluzione di ipoclorito di sodio a contatto con le superfici per almeno 1 minuto, quindi risciacquare con acqua. Non lasciare asciugare la soluzione di ipoclorito di sodio. Coprire la superficie del banco sul quale verranno preparati i reagenti e i campioni con teli da banco di laboratorio puliti, assorbenti e plastificati.

B. Preparazione del reagente di un nuovo kit

Nota - *Eseguire la ricostituzione dei reagenti prima di iniziare qualsiasi lavoro sul Panther System.*

1. Per ricostituire i reagenti di amplificazione, enzimatico e sonda, unire il contenuto dei flaconi di reagente liofilizzato alla soluzione di ricostituzione. Se le soluzioni di ricostituzione sono state refrigerate, prima dell'uso lasciare che raggiungano la temperatura ambiente.
    a. Abbinare ciascuna soluzione di ricostituzione al rispettivo reagente liofilizzato. Prima di collegare il collare di ricostituzione, assicurarsi che le etichette della soluzione di ricostituzione e del reagente siano dello stesso colore.
    b. Controllare i numeri di lotto sul foglio dei codici a barre dei lotti master per assicurarsi di abbinare i reagenti appropriati.
    c. Aprire il flacone del reagente liofilizzato e inserire con fermezza l'estremità indentata del collare di ricostituzione nell'apertura del flacone (Figura 2, Passaggio 1).
    d. Aprire la bottiglia di soluzione di ricostituzione corrispondente e collocare il tappo su una superficie di lavoro pulita e coperta.
    e. Tenendo la bottiglia della soluzione sul banco, inserire con fermezza l'altra estremità del collare di ricostituzione nella bottiglia (Figura 2, Passaggio 2).
    f. Capovolgere lentamente la bottiglia con il flacone collegato. Lasciar drenare la soluzione dalla bottiglia al flacone di vetro (Figura 2, Passaggio 3).
    g. Agitare roteando con attenzione la soluzione nella bottiglia per miscelarla. Nel roteare la bottiglia, evitare la formazione di schiuma (Figura 2, Passaggio 4).
    h. Attendere che il reagente liofilizzato si dissolva, quindi capovolgere di nuovo la bottiglia collegata al flacone mantenendo un'inclinazione di 45° per ridurre al minimo la formazione di schiuma (Figura 2, Passaggio 5). Lasciare che tutto il liquido ritorni nella bottiglia di plastica.
    i. Rimuovere il collare di ricostituzione e il flacone di vetro (Figura 2, Passaggio 6).
    j. Rimettere il tappo sulla bottiglia di plastica. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data di ricostituzione (Figura 2, Passaggio 7).
    k. Gettare via il collare di ricostituzione e il flacone di vetro (Figura 2, Passaggio 8).

Avvertenza - *Evitare la formazione di schiuma durante la ricostituzione dei reagenti. La schiuma pregiudica la sensibilità di rilevamento dei livelli nel Panther System.*

Nota - *Miscelare a fondo i reagenti di amplificazione, enzimatico, sonda e selezione capovolgendo delicatamente i flaconi prima di caricarli nel sistema. Evitare la formazione di schiuma quando si capovolgono i reagenti.*

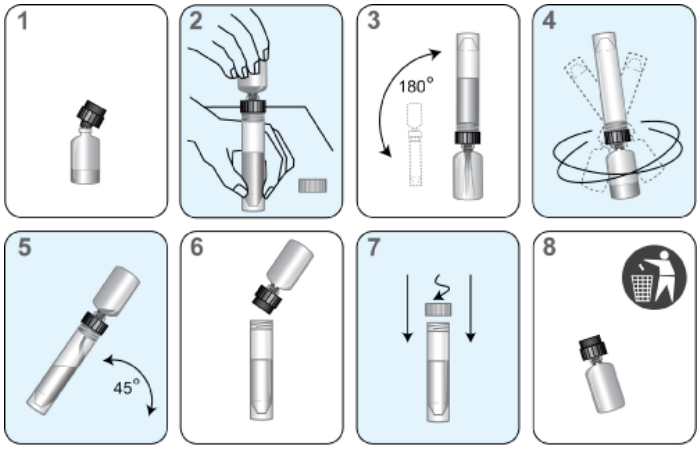

Figura 2. Procedimento di ricostituzione del Panther System

2. Preparare il reagente di cattura del target pronto all'uso (working Target Capture Reagent, wTCR).
   a. Abbinare i flaconi di TCR e di controllo interno (Internal Control, IC) appropriati.
   b. Controllare i numeri di lotto dei reagenti sul foglio dei codici a barre dei lotti master per assicurarsi di abbinare i reagenti appropriati.
   c. Aprire il flacone di TCR e disporne il tappo su una superficie di lavoro pulita e coperta.
   d. Aprire il flacone di controllo interno e versare l'intero contenuto nel flacone di TCR. E'normale che nel flacone di controllo interno resti una piccola quantità di liquido.
   e. Chiudere con il tappo il flacone di TCR e roteare con attenzione la soluzione per miscelare il contenuto. Evitare la formazione di schiuma durante questo procedimento.
   f. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data corrente.
   g. Eliminare il flacone e il tappo del controllo interno.
   h. Nel wTCR può formarsi precipitato che potrebbe produrre risultati non validi a causa di errori di verifica del volume. Il precipitato può essere dissolto riscaldando il wTCR a 42 °C – 60 °C per un massimo di 90 minuti. Prima di usare il reagente, lasciare che raggiunga la temperatura ambiente. Non usare se persiste il precipitato.
3. Preparare il reagente di selezione.
   a. Verificare il numero di lotto del reagente sul foglio dei codici a barre dei lotti master per assicurarsi che appartenga al kit.
   b. Se il reagente di selezione contiene del precipitato, riscaldare il reagente a 60 °C ± 1 °C per un massimo di 45 minuti per agevolare la dissoluzione del precipitato. Miscelare con attenzione il flacone ogni 5 – 10 minuti. Prima di usare il reagente di selezione, lasciare che raggiunga la temperatura ambiente. Non usarlo se persistono precipitato o torbidità.

Nota - *Miscelare accuratamente tutti i reagenti capovolgendoli con attenzione prima di caricarli sul sistema. Evitare la formazione di schiuma quando si capovolgono i reagenti.*

C. Preparazione di reagenti precedentemente ricostituiti

1. I reagenti sonda, di amplificazione ed enzimatico precedentemente ricostituiti devono essere portati a temperatura ambiente (da 15 °C a 30 °C) prima di iniziare il test.
2. Se il reagente sonda ricostituito contiene precipitato che non ritorna in soluzione a temperatura ambiente, riscaldare a non oltre 60 °C per 1 – 2 minuti. Non usare il reagente se sono presenti precipitato o torbidità.

3. Se il wTCR contiene precipitato, riscaldarlo a 42 °C – 60 °C fino a 90 minuti. Prima di usare il reagente, lasciare che raggiunga la temperatura ambiente. Non usare se persiste il precipitato.
4. Se il reagente di selezione contiene del precipitato, riscaldare il reagente a 60 °C ± 1 °C per un massimo di 45 minuti per agevolare la dissoluzione del precipitato. Miscelare con attenzione il flacone ogni 5 – 10 minuti. Prima di usare il reagente di selezione, lasciare che raggiunga la temperatura ambiente. Non usarlo se persistono precipitato o torbidità.
5. Miscelare accuratamente ciascun reagente capovolgendolo con attenzione prima di caricarlo sul sistema. Evitare la formazione di schiuma quando si capovolgono i reagenti.
6. Evitare di riempire i flaconi dei reagenti fino all'orlo. Il Panther System riconosce e rifiuta i flaconi riempiti fino all'orlo.

D. Manipolazione dei campioni

1. Prima di procedere al trattamento, attendere che tutti i campioni (calibratori, campioni clinici e ogni altro campione di controllo qualità esterno fornito dall'utente) raggiungano la temperatura ambiente.
2. **Non miscelare i campioni con il vortex.**
3. Ispezionare le provette di campione prima di caricarle sulla rastrelliera. Se una provetta di campione contiene bolle o presenta un volume inferiore a quello tipicamente osservato, centrifugarla per 5 minuti a 420 RCF per far sì che il liquido non resti nel tappo.

Nota - *Se non si esegue il passaggio 3, il liquido potrebbe traboccare dal tappo della provetta del campione.*

E. Preparazione del sistema

Impostare il sistema secondo le istruzioni contenute nel *Manuale per l'operatore del Panther System* (Panther System Operator's Manual) e nella sezione *Note procedurali* qui di seguito. Assicurarsi di utilizzare rastrelliere reagenti e adattatori TCR di dimensioni appropriate.

Note procedurali

A. Calibratori

1. Per poter utilizzare correttamente l'Aptima 16 18/45 Genotype assay Software sul Panther System, sono necessari due replicati del calibratore negativo e di ciascun calibratore positivo. È possibile caricare una fiala di ciascun calibratore in qualsiasi posizione della rastrelliera in una corsia dello scomparto dei campioni sul Panther System. Il pipettaggio dei campioni inizierà quando verrà soddisfatta una delle due seguenti condizioni:
   a. il Panther System sta eseguendo il trattamento dei calibratori positivi e negativi;
   b. nel Panther System vengono registrati risultati validi per i calibratori.
2. Una volta che le provette di calibratore sono state pipettate e sono in corso di elaborazione per un particolare kit di reagenti, è possibile analizzare i campioni con il kit di reagenti del dosaggio associato per un periodo di 24 ore, eccetto nei seguenti casi.
   a. I calibratori non sono validi.
   b. Il kit di reagenti del test associato viene rimosso dal Panther System.
   c. Il kit di reagenti del dosaggio associato ha superato i limiti di stabilità.
3. Se si tenta di pipettare più di due replicati da una provetta di calibratore, è possibile che si verifichino errori da volume insufficiente.

B. Temperatura

Per temperatura ambiente si intende un range di temperatura da 15 °C a 30 °C.

C. Talco dei guanti

Come in qualsiasi sistema di reagenti, il talco eccessivo in alcuni guanti può causare la contaminazione delle provette aperte. Si consigliano guanti privi di talco.

Procedure di controllo qualità

A. Criteri di validità della sessione analitica.

Il software stabilisce automaticamente la validità della sessione analitica. Il software considera non validoa una sessione analitica se si verifica una qualsiasi delle seguenti condizioni.

- Più di un replicato di calibratore negativo non valido.
- Più di un replicato del calibratore positivo 1 non valido.
- Più di un replicato del calibratore positivo 2 non valido.
- Più di 1 dei 6 replicati del calibratore non validi combinati.

Una sessione analitica può essere considerata non valida da un operatore se si osservano e si documentano durante il test difficoltà tecniche, dell'operatore o dello strumento.

Una sessione analitica non valida deve essere ripetuta. Le sessioni analitiche interrotte devono essere ripetute.

B. Criteri di accettazione dei calibratori.

La tabella qui sotto definisce i criteri RLU per i replicati dei calibratori negativo e positivo.

	Tigris DTS System	Panther System
Calibratore negativo		
RLU 18/45	*Fra ≥ 0 e ≤ 60.000 RLU*	*≥ 0 e ≤ 60.000 RLU*
RLU IC/16	*Fra ≥ 75.000 e ≤ 300.000 RLU*	*≥ 75.000 e ≤ 300.000 RLU*
Calibratore positivo 1		
RLU 18/45	*≥ 850.000 e ≤ 2.200.000 RLU*	*≥ 800.000 e ≤ 2.200.000 RLU*
RLU IC/16	*≤ 475.000 RLU*	*≤ 475.000 RLU*
Calibratore positivo 2		
RLU 18/45	*≤ 115.000 RLU*	*≤ 115.000 RLU*
RLU IC/16	*≥ 625.000 e ≤ 4.000.000 RLU*	*≥ 625.000 e ≤ 4.000.000 RLU*

C. Cutoff IC.

Il cutoff dell'IC è determinato dal segnale dell'analita IC/16 emesso dai replicati validi del calibratore negativo.

Cutoff IC = *0,5 x [RLU media IC/16 dei replicati validi del calibratore negativo]*

D. Cutoff analita 16.

Il cutoff dell'analita per l'HPV 16 è determinato dal segnale RLU IC/16 emesso dai replicati validi del calibratore negativo e dai replicati validi del calibratore positivo 2.

Cutoff analita 16 = *2 x [RLU media IC/16 dei replicati validi del calibratore negativo] + 0,1 x [RLU media IC/16 dei replicati validi del calibratore positivo 2]*

E. Cutoff analita 18/45.

Il cutoff dell'analita per l'HPV 18/45 è determinato dal segnale RLU 18/45 emesso dai replicati validi del calibratore negativo e dai replicati validi del calibratore positivo 1.

Cutoff analita 18/45 = *1 x [RLU media 18/45 dei replicati validi del calibratore negativo] + 0,18 x [RLU media 18/45 dei replicati validi del calibratore positivo 1]*

Interpretazione del test

I risultati del test vengono determinati automaticamente dal software del test. Un risultato del test può essere negativo per l'HPV 16 per e l'HPV 18/45, negativo per l'HPV 16 e positivo per l'HPV 18/45, positivo per l'HPV 16 e negativo per l'HPV 18/45, positivo per entrambi oppure non valido, come determinato dall'RLU IC e dai rapporti S/CO descritti nella tabella sotto. Un risultato del test può essere non valido anche a causa di altri parametri (ad esempio, forma della curva cinetica anomala) che si trovano al di fuori dei normali intervalli previsti. I risultati iniziali non validi vanno ripetuti.

I campioni prelevati con il kit CSCT possono essere diluiti per eliminare l'interferenza delle sostanze potenzialmente inibitorie. Diluire 1 parte del campione non valido in 8 parti di terreno di trasporto (la soluzione presente nelle provette del kit CSCT), es. 560 µl di campione in una nuova provetta del kit CSCT contenente 4,5 ml di terreno di trasporto del campione. Capovolgere con attenzione il campione per miscelarlo, evitando di creare schiuma. Analizzare il campione diluito secondo la procedura analitica standard.

Nota - *Non diluire un campione diluito non valido. Se un campione diluito produce un risultato non valido, occorre ottenere un nuovo campione dal paziente.*

Risultato dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay	**Criteri**
Negativo - 16 **Negativo - 18/45**	*RLU IC/HPV 16 ≥ cutoff IC,* *S/CO HPV 16 < 1,00 e* *S/CO HPV 18/45 < 1,00*
Negativo - 16 **Positivo - 18/45**	*S/CO HPV 16 < 1,00 e* *S/CO HPV 18/45 ≥ 1,00 e* *RLU HPV 18/45 ≤ 3.000.000*
Positivo - 16 **Negativo - 18/45**	*S/CO HPV 16 ≥ 1,00 e* *RLU IC/HPV 16 ≤ 4.000.000* *S/CO HPV 18/45 < 1,00*
Positivo - 16 **Positivo - 18/45**	*S/CO HPV 16 ≥ 1,00 e* *RLU IC/HPV 16 ≤ 4.000.000* *S/CO HPV 18/45 ≥ 1,00 e* *RLU HPV 18/45 ≤ 3.000.000*
Non valido	*S/CO HPV 16 < 1,00 e* *S/CO HPV 18/45 < 1,00 e* *RLU IC/HPV 16 < cutoff IC* *oppure* *RLU IC/HPV 16 > 4.000.000* *oppure* *RLU HPV 18/45 > 3.000.000*

Limiti

A. I tipi di campioni diversi da quelli identificati nell'uso previsto non sono stati valutati.

B. Le prestazioni dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay non sono state valutate per i soggetti vaccinati contro l'HPV.

C. L'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay non è stato valutato nei casi di sospetto abuso sessuale.

D. La prevalenza dell'infezione da HPV in una popolazione può influire sulle prestazioni del test. I valori predittivi positivi diminuiscono quanto vengono testate popolazioni con bassa prevalenza o individui non a rischio di infezione.

E. I campioni per citologia in fase liquida ThinPrep che contengono meno di 1 ml dopo la preparazione del vetrino per Pap test ThinPrep vengono considerati inadeguati per l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay.

F. La raccolta, la conservazione o il trattamento inadeguati dei campioni possono influire sui risultati del test.

G. Il controllo interno serve a monitorare le fasi del test di cattura del target, amplificazione e rilevamento, non a controllare l'adeguatezza del prelievo cervicale.

H. Un risultato negativo dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay non esclude la possibilità di anomalie citologiche o CIN2, CIN3 futura o latente oppure cancro.

I. L'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay fornisce risultati qualitativi. Non può quindi essere tracciata una correlazione fra l'intensità di un segnale positivo del test e il livello di espressione di mRNA in un campione.

J. Il rilevamento dell'mRNA dell'HPV ad alto rischio (tipi 16, 18 e 45) dipende dal numero di copie presenti nel campione e può essere influenzato dai metodi di prelievo del campione, da fattori legati al paziente, dallo stadio dell'infezione e dalla presenza di sostanze interferenti.

K. L'infezione da HPV non è indicativa della presenza di HSIL (lesione intraepiteliale squamosa di alto grado) citologica o di CIN di alto grado latente, né implica lo sviluppo di CIN2, CIN3 o cancro. La maggior parte delle donne infette da uno o più tipi di HPV ad alto rischio non sviluppa CIN2, CIN3 o cancro.

L. Le seguenti sostanze possono interferire con le prestazioni del test se presenti in concentrazioni superiori a quelle specificate: lubrificanti vaginali (contenenti Polyquaternium 15) in concentrazione 1% p/v, crema antimicotica (contenente tioconazolo) in concentrazione 0,03% p/v, muco in concentrazione 0,3% p/v, ormoni intravaginali (contenenti progesterone) in concentrazione 1% p/v, Trichomonas vaginalis in concentrazione di 3×10^4 cellule/ml.

M. Elevate concentrazioni di HPV 45 possono ridurre la capacità dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay di rilevare la presenza dell'HPV 16 alle basse concentrazioni.

N. Gli effetti delle altre potenziali variabili come le secrezioni vaginali, l'uso di tamponi ecc. e le variabili correlate al prelievo del campione non sono stati valutati.

O. L'uso di questo dispositivo può essere limitato al personale addestrato all'uso dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay.

P. La contaminazione crociata dei campioni può causare risultati falsi positivi. Il tasso di contaminazione crociata dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay sul Tigris DTS System e sul Panther System è stato, rispettivamente, dello 0,35% e dello 0,19% in base alle stime determinate con gli studi non clinici.

Q. L'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay deve essere interpretato unitamente agli altri dati clinici e di laboratorio a disposizione del medico.

Risultati attesi con il Tigris DTS System: prevalenza di mRNA dell'HPV ad alto rischio

La prevalenza dell'infezione da HPV ad alto rischio varia notevolmente ed è influenzata da diversi fattori fra i quali l'età, che contribuisce in misura maggiore.[19,20] Molti studi hanno esaminato la prevalenza dell'HPV in base ai dati ottenuti dal rilevamento del DNA dell'HPV, tuttavia sono pochi gli studi che riportano la prevalenza in base al rilevamento dell'mRNA dell'HPV oncogeno. Donne provenienti da numerosi centri clinici (n = 18) rappresentative di un'ampia distribuzione geografica e di una popolazione variegata (10 stati all'interno degli Stati Uniti) sono state inserite in uno studio clinico prospettico noto come sperimentazione CLEAR per valutare l'Aptima HPV assay, che consente di individuare 14 tipi di HPV ad alto rischio.[21] Campioni prelevati dalle donne inserite nella sperimentazione CLEAR con risultati positivi all'Aptima HPV assay sono stati valutati con l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay in uno studio clinico separato. La prevalenza dell'HPV 16, 18 e 45 come pure dei restanti 11 tipi di HPV ad alto rischio osservata nello studio clinico in base ai risultati dei test eseguiti con l'Aptima HPV assay e con l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, è stata suddivisa in categorie, complessivamente, per gruppo di età e centro di analisi. I risultati per le popolazioni cellule squamose atipiche di significato indeterminato (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance, ASC-US) e negative per lesione intraepiteliale o malignità (Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy, NILM) sono riportati nella Tabella 1.

Tabella 1: Prevalenza di mRNA dell'HPV ad alto rischio nelle popolazioni suddivise in categorie per gruppo di età, centro di analisi e totale delle due

	Percentuale di positività % (x/n)							
	Popolazione ASC-US (≥ 21 anni)				**Popolazione NILM (≥ 30 anni)**			
	Pos HPV 16	**Pos HPV 18/45**	**Pos HPV 16 e 18/45**	**Pos 11 altri tipi HR***	**Pos HPV 16**	**Pos HPV 18/45**	**Pos HPV 16 e 18/45**	**Pos 11 altri tipi HR***
Tutti	7,8 (71/912)	5,2 (47/912)	0,3 (3/912)	25,5 (233/912)	0,4 (47/10.846)	0,4 (47/10.846)	0 (0/10.846)	3,9 (421/10.846)
Gruppo di età (anni)								
Da 21 a 29	13,2 (51/386)	4,9 (19/386)	0,5 (2/386)	38,3 (148/386)	N/P	N/P	N/P	N/P
Da 30 a 39	5,4 (14/257)	7,0 (18/257)	0,4 (1/257)	21,8 (56/257)	0,7 (30/4.188)	0,6 (27/4.188)	0 (0/4.188)	5,3 (221/4.188)
≥ 40	2,2 (6/269)	3,7 (10/269)	0 (0/269)	10,8 (29/269)	0,3 (17/6.658)	0,3 (20/6.658)	0 (0/6.658)	3,0 (200/6.658)
Centro di analisi								
1	9,0 (27/301)	4,3 (13/301)	0,7 (2/301)	24,9 (75/301)	0,4 (13/3.666)	0,5 (18/3.666)	0 (0/3.666)	3,8 (141/3.666)
2	7,4 (23/310)	6,1 (19/310)	0 (0/310)	26,5 (82/310)	0,5 (18/3.671)	0,5 (17/3.671)	0 (0/3.671)	3,7 (136/3.671)
3	7,0 (21/301)	5,0 (15/301)	0,3 (1/301)	25,2 (76/301)	0,5 (16/3.509)	0,3 (12/3.509)	0 (0/3.509)	4,1 (144/3.509)

N/P = Non pertinente, HR = alto rischio, Pos = Positivo
*Tipi di HPV 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68.

Prestazioni del test sul Tigris DTS System

Progetto di sperimentazione clinica dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay con campioni per citologia in fase liquida ThinPrep

L'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay è stato valutato utilizzando campioni per Pap test di riferimento prelevati da donne consenzienti durante lo studio prospettico multicentrico effettuato negli Stati Uniti, noto come sperimentazione CLEAR. La sperimentazione CLEAR è stata condotta allo scopo di determinare le prestazioni cliniche dell'Aptima HPV assay per il rilevamento della neoplasia intraepiteliale cervicale di grado 2 o della cervicopatia di grado più alto (≥CIN2). Le donne sono state inserite nello studio ASC-US o nello studio NILM in base ai risultati citologici degli esami di riferimento eseguiti in fase liquida ThinPrep ottenuti durante uno screening routinario del tumore della cervice. La popolazione dello studio ASC-US includeva donne di età pari o superiore a 21 anni con risultati citologici ASC-US e la popolazione dello studio NILM includeva donne di età pari o superiore a 30 anni con risultati citologici NILM.

Sono state analizzate donne provenienti da 18 centri clinici, principalmente cliniche di ostetricia e ginecologia, con un'ampia distribuzione geografica e una popolazione variegata. Durante la sperimentazione CLEAR, i campioni di riferimento residui per Pap test sono stati analizzati sia con l'Aptima HPV assay che con il test per il DNA dell'HPV disponibile in commercio. Per lo studio clinico dell'Aptima HPV 16 18/45, i campioni ottenuti dai campioni di riferimento residui per Pap test sono stati analizzati con l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay.

Tutte le donne inserite nello studio ASC-US sono state sottoposte a colposcopia, indipendentemente dai risultati dell'Aptima HPV assay e del test per il DNA dell'HPV. Sono stati effettuati due tipi di prelievo: una biopsia con raschiamento endocervicale (Endocervical Cutterage, ECC) e una biopsia con puntura cervicale (1 biopsia da ciascuno dei 4 quadranti). Se la lesione era visibile, la biopsia è stata eseguita con puntura (metodo diretto, 1 biopsia per lesione), mentre per i quadranti che non mostravano una lesione visibile la biopsia è stata eseguita alla giunzione squamocolonnare (metodo random).

Nello studio NILM, le donne positive all'Aptima HPV assay e/o al test per il DNA dell'HPV disponibile in commercio, come pure donne scelte a caso negative a entrambi i test sono state sottoposte a colposcopia per una valutazione preliminare. A ciascuna donna sottoposta a colposcopia è stata effettuata una biopsia ECC. Le biopsie sono state effettuate con puntura solo in presenza di lesioni visibili (metodo diretto, 1 biopsia per lesione). Per le donne dello studio NILM che inizialmente non presentano CIN2 o di grado superiore (≥CIN2) sono state programmate visite di controllo per 3 anni con esami citologici annuali. Le donne che durante il periodo di controllo mostrano ASC-US o risultati citologici più rilevanti vengono sottoposte a colposcopia utilizzando la stessa procedura bioptica eseguita per la valutazione preliminare.

Lo stato della malattia è stato determinato mediante un pannello di valutazione consensuale degli esami istologici, basato sulle valutazioni concordanti di almeno 2 patologi esperti. I patologi esperti sono stati tenuti all'oscuro dello stato citologico e di infezione da HPV delle donne, nonché delle diagnosi istologiche di ciascuna donna. Per evitare il bias, gli sperimentatori, i medici e le donne sono stati tenuti all'oscuro dei risultati dell'Aptima HPV assay e del test per il DNA dell'HPV disponibile in commercio fino al completamento dell'esame colposcopico.

Al fine di convalidare l'uso previsto dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay come reflex test per un risultato positivo dell'Aptima HPV assay, i campioni residui di riferimento per Pap test prelevati da tutte le donne valutabili nello studio ASC-US e nello studio NILM con un risultato positivo per l'Aptima HPV assay sono risultati idonei per poter essere analizzati con l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay. Sono state valutate le prestazioni cliniche

dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay per il rilevamento di CIN2 o di grado superiore (≥CIN2) e di neoplasia intraepiteliale cervicale di grado 3 o superiore (≥CIN3).

Popolazione ASC-US di età pari o superiore a 21 anni: progetto di sperimentazione clinica dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay con campioni per citologia in fase liquida ThinPrep

Complessivamente, sono state valutate 400 donne di età pari o superiore a 21 anni con risultati citologici ASC-US e risultati positivi all'Aptima HPV assay, i cui campioni di riferimento per Pap test sono risultati idonei per essere analizzati con l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay. Di queste, 46 non avevano campioni di riferimento per Pap test da poter analizzare e 6 hanno avuto una diagnosi indeterminata; tutte queste donne sono state escluse dall'analisi. Le restanti 348 donne valutabili con stato conclamato della malattia hanno fornito risultati validi per l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay in base al test reflex di un risultato positivo all'Aptima HPV assay. Sessantasette (67) donne hanno avuto una diagnosi di CIN2 o di grado superiore (≥CIN2) e ventinove (29) hanno avuto una diagnosi di CIN3 o di grado superiore (≥CIN3).

Delle 348 donne valutabili con risultati positivi per l'Aptima HPV assay, 117 hanno mostrato risultati positivi per l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, indicativi della presenza dell'HPV 16 e/o dell'HPV 18/45; 231 hanno mostrato risultati negativi, indicativi della presenza di uno o più degli altri 11 tipi di HPV ad alto rischio, come rilevato dall'Aptima HPV assay (ossia, i tipi di HPV 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68). Un altro gruppo di 545 donne valutabili di età pari o superiore a 21 anni con risultati citologici ASC-US ha mostrato risultati negativi per l'Aptima HPV assay durante la sperimentazione CLEAR. Un risultato negativo per l'Aptima HPV assay indica che non è presente nessuno dei 14 tipi di HPV ad alto rischio e che questi tipi sono stati designati come negativi per l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay per lo scopo dell'analisi. La prevalenza di diagnosi ≥CIN2 e ≥CIN3 nelle donne valutabili con risultati citologici ASC-US è stata rispettivamente dell'8,8% e del 3,7%.
I risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay basati sui risultati dell'Aptima HPV assay e sulla diagnosi effettuata con il pannello di valutazione consensuale degli esami istologici sono illustrati nella Tabella 2.

Tabella 2: Popolazione ASC-US di età pari o superiore a 21 anni: risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay e dell'Aptima HPV assay basati sulla diagnosi effettuata con il pannello di valutazione consensuale degli esami istologici

Risultato dell'Aptima HPV Assay	Risultato dell'AHPV-GT Assay*	Interpretazione	Diagnosi con pannello di valutazione consensuale degli esami istologici						
			Indeterminato**	Normale	CIN1	CIN2	CIN3	Cancro	Totale
Positivo	Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	Pos HPV 16	1	27	18	11	14	0	71
	Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos HPV 18/45	3	23	14	3	3	1	47
	Pos HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e 18/45	0	1	0	1	1	0	3
	Neg HPV 16, Neg HPV 18/45	Pos altri HPV HR	2	125	73	23	10	0	233
Totale			6	176	105	38	28	1	354
Negativo	Neg HPV 16/18/45***	Neg HPV HR	13	458	75	8	4	0	558
		Totale	19	634	180	46	32	1****	912

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, CIN1 = neoplasia intraepiteliale cervicale di grado 1, HR = alto rischio, Neg = negativo, Pos = positivo
*Tutti i campioni hanno mostrato risultati finali (dall'analisi finale o dopo la risoluzione dei risultati iniziali non validi per cause procedurali).
**19 donne sono state sottoposte a visita colposcopica ma non è stato possibile effettuare una diagnosi per i seguenti motivi: < 5 campioni di biopsia tutti con risultati istologici Normale/CIN1 (n = 15), nessuna biopsia prelevata (n = 3) e vetrini di biopsia smarriti (n = 1).
***Le donne con risultati negativi all'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay per lo scopo dell'analisi.
***Una donna ha avuto una diagnosi di adenocarcinoma in situ (AIS).

Il rischio assoluto di malattia (≥CIN2 e ≥CIN3) deducibile dal risultato dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay a dal risultato dell'Aptima HPV assay è riportato nella Tabella 3. Il rischio di ≥CIN2 nelle donne in cui erano presenti i tipi di HPV 16, 18 e/o 45 è stato del 29,1% rispetto al 14,3% nelle donne in cui erano presenti uno o più degli altri 11 tipi di HPV ad alto rischio e al 2,2% nelle donne in cui non era presente alcun tipo di HPV ad alto rischio. I rischi assoluti sono riportati per gruppo di età nella Tabella 4.

Tabella 3: Popolazione ASC-US di età pari o superiore a 21 anni: rischio assoluto di ≥CIN2 e ≥CIN3 per i risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay e dell'Aptima HPV assay

Risultato dell'Aptima HPV Assay	Risultato dell'AHPV-GT Assay	Interpretazione	≥CIN2	≥CIN3
			Rischio assoluto (CI al 95%)	Rischio assoluto (CI al 95%)
Positivo	Pos HPV 16 e/o Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e/o HPV 18/45	29,1 (34/117) (22,4, 36,0)	16,2 (19/117) (11,4, 21,1)
	Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	Pos solo HPV 16	35,7 (25/70) (26,1, 45,9)	20,0 (14/70) (12,6, 28,0)
	Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos solo HPV 18/45	15,9 (7/44) (7,2, 28,3)	9,1 (4/44) (2,9, 19,5)
	Pos HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e 18/45	66,7 (2/3) (15,2, 98,2)	33,3 (1/3) (1,8, 84,6)
	Neg HPV 16/18/45	Pos altri HPV HR	14,3 (33/231) (10,9, 17,9)	4,3 (10/231) (2,4, 6,8)
	Pos o Neg	Pos HPV HR	19,3 (67/348) (17,1, 21,3)	8,3 (29/348) (6,9, 9,4)
Negativo	Neg HPV 16/18/45*	Neg HPV HR	2,2 (12/545) (1,2, 3,5)	0,7 (4/545) (0,2, 1,6)
		Prevalenza	8,8% (79/893)	3,7% (33/893)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, HR = alto rischio, Pos = positivo, Neg = negativo
*Le donne con risultati negativi all'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay per lo scopo dell'analisi.

Tabella 4: Popolazione ASC-US di età pari o superiore a 21 anni: rischio assoluto di ≥CIN2 e ≥CIN3 per i risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay e dell'Aptima HPV assay per gruppo di età

	Risultato dell'Aptima HPV Assay	Risultato dell'AHPV-GT Assay	Interpretazione	≥CIN2	≥CIN3
				Rischio assoluto (CI al 95%)	Rischio assoluto (CI al 95%)
Da 21 a 29 anni	Positivo	Pos HPV 16 e/o Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e/o HPV 18/45	26,8 (19/71) (18,3, 35,7)	15,5 (11/71) (9,3, 21,8)
		Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	Pos solo HPV 16	28,0 (14/50) (17,5, 39,6)	18,0 (9/50) (9,9, 26,9)
		Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos solo HPV 18/45	15,8 (3/19) (3,7, 36,3)	5,3 (1/19) (0,2, 22,5)
		Pos HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e 18/45	100 (2/2) (27,0, 100)	50,0 (1/2) (2,9, 97,1)
		Neg HPV 16/18/45	Pos altri HPV HR	17,0 (25/147) (12,6, 21,5)	5,4 (8/147) (2,8, 8,5)
		Pos o Neg	Pos HPV HR	20,2 (44/218) (17,6, 22,5)	8,7 (19/218) (7,1, 9,8)
	Negativo	Neg HPV 16/18/45*	Neg HPV HR	3,6 (6/165) (1,5, 6,9)	0,6 (1/165) (0,0, 2,7)
			Prevalenza	13,1% (50/383)	5,2% (20/383)
Da 30 a 39 anni	Positivo	Pos HPV 16 e/o Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e/o HPV 18/45	32,3 (10/31) (19,0, 45,9)	16,1 (5/31) (7,0, 25,4)
		Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	Pos solo HPV 16	50,0 (7/14) (24,2, 74,2)	21,4 (3/14) (5,1, 41,6)
		Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos solo HPV 18/45	18,8 (3/16) (3,0, 40,6)	12,5 (2/16) (1,3, 30,8)
		Pos HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e 18/45	0 (0/1) (0,0, 93,5)	0 (0/1) (0,0, 93,3)
		Neg HPV 16/18/45	Pos altri HPV HR	12,7 (7/55) (6,2, 20,5)	3,6 (2/55) (0,6, 9,1)
		Pos o Neg	Pos HPV HR	19,8 (17/86) (15,1, 23,9)	8,1 (7/86) (4,7, 10,3)
	Negativo	Neg HPV 16/18/45*	Neg HPV HR	1,2 (2/167) (0,2, 3,5)	0,6 (1/167) (0,0, 2,3)
			Prevalenza	7,5% (19/253)	3,2% (8/253)
≥ 40 anni	Positivo	Pos HPV 16 e/o Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e/o HPV 18/45	33,3 (5/15) (12,4, 55,0)	20,0 (3/15) (4,1, 36,0)
		Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	Pos solo HPV 16	66,7 (4/6) (27,1, 93,5)	33,3 (2/6) (6,2, 69,2)
		Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos solo HPV 18/45	11,1 (1/9) (0,5, 39,7)	11,1 (1/9) (0,5, 37,1)
		Pos HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e 18/45	--- (0/0)	--- (0/0)
		Neg HPV 16/18/45	Pos altri HPV HR	3,4 (1/29) (0,1, 14,0)	0 (0/29) (0,0, 8,2)
		Pos o Neg	Pos HPV HR	13,6 (6/44) (6,5, 20,6)	6,8 (3/44) (1,8, 11,4)
	Negativo	Neg HPV 16/18/45*	Neg HPV HR	1,9 (4/213) (0,6, 3,4)	0,9 (2/213) (0,1, 2,0)
			Prevalenza	3,9% (10/257)	1,9% (5/257)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, HR = alto rischio, Pos = positivo, Neg = negativo
*Le donne con risultati negativi all'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay per lo scopo dell'analisi.

Il rischio relativo di malattia per i risultati positivi rispetto ai risultati negativi dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay è riportato nella Tabella 5. Le donne che in cui è stata riscontrata la presenza dei tipi 16, 18 e/o 45 di HPV hanno avuto una probabilità 13,2 volte maggiore di contrarre ≥CIN2 e 22,1 volte maggiore di contrarre ≥CIN3 rispetto alle donne in cui non è stato riscontrato alcun tipo di HPV ad alto rischio. Le donne che in cui è stata riscontrata la presenza dei tipi 16, 18 e/o 45 di HPV hanno avuto una probabilità 2,0 volte maggiore di contrarre ≥CIN2 e 3,8 volte maggiore di contrarre ≥CIN3 rispetto alle donne in cui sono stati riscontrati uno o più degli altri 11 tipi di HPV ad alto rischio.

Tabella 5: Popolazione ASC-US di età pari o superiore a 21 anni: rischio relativo di ≥CIN2 e ≥CIN3 per i risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay e dell'Aptima HPV assay

Interpretazione dei risultati dell'Aptima Assay*	**≥CIN2**	**≥CIN3**
	Rischio relativo (CI al 95%)	**Rischio relativo (CI al 95%)**
Positivo all'HPV 16 e/o 18/45 rispetto a negativo all'HPV HR	13,2 (7,0, 24,7)	22,1 (7,7, 63,8)
Positivo all'HPV 16 e/o 18/45 rispetto a positivo agli altri HPV HR	2,0 (1,3, 3,1)	3,8 (1,8, 7,8)
Positivo agli altri HPV HR rispetto a negativo all'HPV HR	6,5 (3,4, 12,3)	5,9 (1,9, 18,6)
Positivo all'HPV HR rispetto a negativo all'HPV HR	8,7 (4,8, 15,9)	11,4 (4,0, 32,0)
Prevalenza	8,8% (79/893)	3,7% (33/893)

CI = intervallo di confidenza, HR = alto rischio
*Le donne con risultati negativi all'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay per lo scopo dell'analisi.

I rapporti di verosimiglianza (≥CIN2 e ≥CIN3) deducibili dal risultato dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay sono riportati nella Tabella 6. I tipi di HPV 16, 18 e/o 45 sono stati riscontrati con una probabilità di 4,2 volte superiore in una donna con ≥CIN2 e di 5,1 superiore in una donna con ≥CIN3.

Tabella 6: Popolazione ASC-US di età pari o superiore a 21 anni: rapporti di verosimiglianza per ≥CIN2 e ≥CIN3 in base ai risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay e dell'Aptima HPV assay

Interpretazione dei risultati dell'Aptima Assay*	**≥CIN2**	**≥CIN3**
	Rapporto di verosimiglianza (CI al 95%)	**Rapporto di verosimiglianza (CI al 95%)**
Positivo all'HPV 16 e/o all'HPV 18/45	4,2 (3,0, 5,8)	5,1 (3,4, 6,9)
Positivo agli altri HPV HR	1,7 (1,3, 2,3)	1,2 (0,6, 1,9)
Negativo all'HPV HR	0,2 (0,1, 0,4)	0,2 (0,1, 0,4)

CI = intervallo di confidenza, HR = alto rischio
*Le donne con risultati negativi all'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay per lo scopo dell'analisi.

Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: progetto di sperimentazione clinica dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay con campioni per citologia in fase liquida ThinPrep

Complessivamente, sono state valutate 540 donne di età pari o superiore a 30 anni con risultati citologici NILM e risultati positivi all'Aptima HPV assay, i cui campioni di riferimento per Pap test sono risultati idonei per essere analizzati con l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay. Di queste, 25 non avevano campioni di riferimento per Pap test da poter analizzare e sono state escluse dall'analisi. Le restanti 515 donne valutabili hanno mostrato risultati validi per l'Aptima 16 18/45 Genotype assay. Di queste, 317 sono state sottoposte a colposcopia. Quindici (15) donne hanno avuto una diagnosi di ≥CIN2 e dieci (10) una diagnosi di ≥CIN3; 283 donne hanno avuto una diagnosi istologica Normale/CIN1; 19 donne hanno avuto una diagnosi di stato indeterminato della malattia.

Delle 298 donne valutabili con stato conclamato della malattia e risultati positivi all'Aptima HPV assay, 61 hanno mostrato risultati positivi all'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, indicativi della presenza dell'HPV 16 e/o dell'HPV 18/45; 237 hanno mostrato risultati negativi, indicativi della presenza di uno o degli altri 11 tipi di HPV ad alto rischio. Un altro gruppo di 505 donne valutabili di età pari o superiore a 30 anni con risultati citologici NILM ha mostrato risultati negativi per l'Aptima HPV assay durante la sperimentazione CLEAR. Un risultato negativo per l'Aptima HPV assay indica che non è presente nessuno dei 14 tipi di HPV ad alto rischio e che questi tipi sono stati designati come negativi per l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay per lo scopo dell'analisi. I risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay basati sui risultati dell'Aptima HPV assay e sulla diagnosi effettuata con il pannello di valutazione consensuale degli esami istologici sono illustrati nella Tabella 7.

Tabella 7: Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay e dell'Aptima HPV assay basati sulla diagnosi effettuata con il pannello di valutazione consensuale degli esami istologici

Risultato dell'Aptima HPV Assay	Risultato dell'AHPV-GT Assay*	Interpre-tazione	Diagnosi con pannello di valutazione consensuale degli esami istologici						
			Indeterminato**	Normale	CIN1	CIN2	CIN3	Cancro	Totale
Positivo	Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	Pos HPV 16	2	27	0	0	3	1	33
	Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos HPV 18/45	1	26	1	1	0	2	31
	Pos HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e 18/45	0	0	0	0	0	0	0
	Neg HPV 16, Neg HPV 18/45	Pos altri HPV HR	16	218	11	4	4	0	253
		Totale	19	271	12	5	7	3	317
Negativo	Neg HPV 16/18/45***	Neg HPV HR	25	483	17	4	1	0	530
		Totale	44	754	29	9	8	3****	847

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, HR = alto rischio, Pos = positivo, Neg = negativo
*Tutti i campioni hanno mostrato risultati finali validi (dall'analisi iniziale o dopo la risoluzione dei risultati iniziali non validi per cause procedurali).
**44 donne sono state sottoposte a visita colposcopica ma non è stato possibile effettuare una diagnosi per i seguenti motivi: non è stato raggiunto il consenso a causa dei campioni inadeguati (n = 28); nessuna biopsia prelevata a causa di fattori sottesi (n = 13); nessuna biopsia prelevata o esaminata a causa di errori (n = 3).
***Le donne con risultati negativi all'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay per lo scopo dell'analisi.
****Tre donne hanno avuto una diagnosi di adenocarcinoma in situ (AIS).

Delle 515 donne con risultati positivi per l'Aptima HPV assay e risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, 217 hanno avuto una diagnosi di stato della malattia non verificato (incluso lo stato non determinato) (Tabella 8). Delle 10.331 donne con risultati negativi per l'Aptima HPV assay dalla sperimentazione CLEAR originale, 9.826 hanno avuto una diagnosi di stato non verificato della malattia. Poiché sono state sottoposte a colposcopia solo le donne scelte a caso con risultati negativi sia per l'Aptima HPV assay che per il test per il DNA dell'HPV disponibile in commercio, in questo gruppo la percentuale di donne con stato non verificato della malattia è stata alta (99,6%). Per correggere questo bias di verifica, è stato utilizzato un metodo di imputazione multipla per stimare il numero di donne con malattia che sarebbe stato identificato se tutte fossero state sottoposte a colposcopia. Sono riportate sia le stime delle prestazioni adattate per il bias di verifica sia le stime delle prestazioni non adattate, basate sulle 803 donne con stato verificato della malattia.

Tabella 8: Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: classificazione delle donne NILM valutabili in base ai risultati dell'Aptima HPV assay e dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, risultati del test per il DNA dell'HPV, stato della malattia (≥CIN2 e ≥CIN3) e stato di verifica della malattia

Risultato dell'Aptima HPV Assay*	Risultato dell'AHPV-GT Assay*	Test per il DNA dell'HPV	Donne totali	Stato della malattia verificato: ≥CIN2		Stato della malattia verificato: ≥CIN3		Stato della malattia non verificato
				Donne malate (≥CIN2)	Donne non malate (≥CIN2)	Donne malate (≥CIN3)	Donne non malate (≥CIN3)	Donne con stato della malattia sconosciuto (% sconosciuto)
Positivo	Positivo	Positivo	83	6	48	5	49	29 (34,9%)
	Positivo	Negativo	9	1	5	1	5	3 (33,3%)
	Positivo	Nessun risultato**	2	0	1	0	1	1 (50,0%)
	Negativo	Positivo	271	7	171	4	174	93 (34,3%)
	Negativo	Negativo	137	1	52	0	53	84 (61,3%)
	Negativo	Nessun risultato**	13	0	6	0	6	7 (53,8%)
		Totale	515	15	283	10	288	217 (42,1%)
Negativo	N/P***	Positivo	306	3	178	1	180	125 (40,8%)
	N/P***	Negativo	9.420	1	322	0	323	9.097 (96,6%)
	N/P***	Nessun risultato**	605	1	0	0	1	604 (99,8%)
		Totale	10.846	20	783	11	792	10.043 (92,6%)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, N/P = Non pertinente
*Tutti i campioni hanno mostrato risultati finali validi (dall'analisi iniziale o dopo la risoluzione dei risultati iniziali non validi per cause procedurali).
**Per 620 donne con risultati dell'Aptima HPV assay non è stato possibile ottenere i risultati del test per il DNA dell'HPV principalmente a causa del volume del campione citologico insufficiente.
***Le donne con risultati negativi all'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay per lo scopo dell'analisi.

Il rischio assoluto di malattia adattato (≥CIN2 e ≥CIN3) deducibile dal risultato dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay a dal risultato dell'Aptima HPV assay è riportato nella Tabella 9a. Il rischio di ≥CIN2 nelle donne in cui erano presenti i tipi di HPV 16, 18 e/o 45 è stato del 12,6% rispetto al 3,4% nelle donne in cui erano presenti uno o più degli altri 11 tipi di HPV ad alto rischio e allo 0,6% nelle donne in cui non era presente alcun tipo di HPV ad alto rischio. I rischi assoluti di malattia non adattati sono riportati complessivamente nella Tabella 9b e per gruppo di età nella Tabella 10.

Tabella 9a: Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: rischio assoluto di ≥CIN2 e ≥CIN3 per i risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay e dell'Aptima HPV assay (stime adattate del bias di verifica)

Risultato dell'Aptima HPV Assay	Risultato dell'AHPV-GT Assay	Interpretazione	≥CIN2	≥CIN3
			Rischio assoluto (CI al 95%)	Rischio assoluto (CI al 95%)
Positivo	Pos HPV 16 e/o Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e/o HPV 18/45	12,6 (3,7, 21,4)	9,5 (2,1, 16,8)
	Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	Pos solo HPV 16	14,5 (2,1, 26,9)	12,1 (0,7, 23,4)
	Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos solo HPV 18/45	10,7 (0,0, 22,5)	6,9 (0,0, 16,2)
	Pos HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e 18/45	N/P	N/P
	Neg HPV 16/18/45	Pos altri HPV HR	3,4 (1,2, 5,6)	1,8 (0,1, 3,5)
	Pos o Neg	Pos HPV HR	5,0 (2,6, 7,5)	3,2 (1,3, 5,2)
Negativo	Neg HPV 16/18/45*	Neg HPV HR	0,6 (0,1, 1,2)	0,4 (0,0, 0,7)
		Prevalenza	0,9%	0,5%

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, HR = alto rischio, Pos = positivo, Neg = negativo, N/P = non pertinente
*Le donne con risultati negativi all'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay per lo scopo dell'analisi.

Tabella 9b: Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: rischio assoluto di ≥CIN2 e ≥CIN3 per i risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay e dell'Aptima HPV assay (stime non adattate)

Risultato dell'Aptima HPV Assay	Risultato dell'AHPV-GT Assay	Interpretazione	≥CIN2	≥CIN3
			Rischio assoluto (CI al 95%)	Rischio assoluto (CI al 95%)
Positivo	Pos HPV 16 e/o Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e/o HPV 18/45	11,5 (7/61) (5,4, 18,9)	9,8 (6/61) (4,6, 15,2)
	Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	Pos solo HPV 16	12,9 (4/31) (4,0, 26,0)	12,9 (4/31) (4,3, 23,8)
	Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos solo HPV 18/45	10,0 (3/30) (2,4, 23,0)	6,7 (2/30) (0,8, 17,7)
	Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e 18/45	N/P (0/0)	N/P (0/0)
	Neg HPV 16/18/45	Pos altri HPV HR	3,4 (8/237) (1,7, 5,3)	1,7 (4/237) (0,6, 3,2)
	Pos o Neg	Pos HPV HR	5,0 (15/298) (3,6, 6,2)	3,4 (10/298) (2,3, 3,9)
Negativo	Neg HPV 16/18/45*	Neg HPV HR	1,0 (5/505) (0,4, 1,9)	0,2 (1/505) (0,0, 0,9)
		Prevalenza	2,5% (20/803)	1,4% (11/803)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, HR = alto rischio, Pos = positivo, Neg = negativo, N/P = non pertinente
*Le donne con risultati negativi all'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay per lo scopo dell'analisi.

Tabella 10: Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: rischio assoluto di ≥CIN2 e ≥CIN3 per i risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay e dell'Aptima HPV assay per gruppo di età (stime non adattate)

	Risultato dell'Aptima HPV Assay	Risultato dell'AHPV-GT Assay	Interpretazione	≥CIN2	≥CIN3
				Rischio assoluto (CI al 95%)	Rischio assoluto (CI al 95%)
Da 30 a 39 anni	**Positivo**	Pos HPV 16 e/o Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e/o HPV 18/45	8,8 (3/34) (2,2, 17,8)	5,9 (2/34) (1,0, 13,3)
		Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	Pos solo HPV 16	0,0 (0/17) (0,0, 15,5)	0,0 (0/17) (0,0, 14,3)
		Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos solo HPV 18/45	17,6 (3/17) (3,2, 35,4)	11,8 (2/17) (1,3, 27,0)
		Pos HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e 18/45	N/P (0/0)	N/P (0/0)
		Neg HPV 16/18/45	Pos altri HPV HR	4,0 (5/124) (1,7, 6,2)	2,4 (3/124) (0,7, 4,2)
		Pos o Neg	Pos HPV HR	5,1 (8/158) (3,2, 6,1)	3,2 (5/158) (1,5, 4,0)
	Negativo	Neg HPV 16/18/45*	Neg HPV HR	0,5 (1/217) (0,0, 1,9)	0,5 (1/217) (0,0, 1,7)
			Prevalenza	2,4% (9/375)	1,6% (6/375)
≥ 40 anni	**Positivo**	Pos HPV 16 e/o Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e/o HPV 18/45	14,8 (4/27) (4,7, 27,3)	14,8 (4/27) (5,1, 22,8)
		Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	Pos solo HPV 16	28,6 (4/14) (6,3, 50,7)	28,6 (4/14) (6,4, 46,5)
		Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos solo HPV 18/45	0,0 (0/13) (0,0, 20,1)	0,0 (0/13) (0,0, 17,1)
		Pos HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e 18/45	N/P (0/0)	N/P (0/0)
		Neg HPV 16/18/45	Pos altri HPV HR	2,7 (3/113) (0,7, 5,8)	0,9 (1/113) (0,0, 3,1)
		Pos o Neg	Pos HPV HR	5,0 (7/140) (2,6, 7,0)	3,6 (5/140) (1,9, 4,2)
	Negativo	Neg HPV 16/18/45*	Neg HPV HR	1,4 (4/288) (0,5, 2,5)	0,0 (0/288) (0,0, 0,8)
			Prevalenza	2,6% (11/428)	1,2% (5/428)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, HR = alto rischio, Pos = positivo, Neg = negativo, N/P = non pertinente
*Le donne con risultati negativi all'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay per lo scopo dell'analisi.

I rischi relativi di malattia per i risultati positivi rispetto ai risultati negativi dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay sono riportati nella Tabella 11 (bias di verifica adattato) e nella Tabella 12 (non adattato). Le donne che in cui è stata riscontrata la presenza dei tipi 16, 18 e/o 45 di HPV hanno avuto una probabilità 20,9 volte maggiore di contrarre ≥CIN2 e 29,4 volte maggiore di contrarre ≥CIN3 rispetto alle donne in cui non è stato riscontrato alcun tipo di HPV ad alto rischio. Le donne che in cui è stata riscontrata la presenza dei tipi 16, 18 e/o 45 di HPV hanno avuto una probabilità 3,7 volte maggiore di contrarre ≥CIN2 e 5,3 volte maggiore di contrarre ≥CIN3 rispetto alle donne in cui sono stati riscontrati uno o più degli altri 11 tipi di HPV ad alto rischio.

Tabella 11: Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: rischio assoluto di ≥CIN2 e ≥CIN3 per i risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay e dell'Aptima HPV assay (stime adattate per il bias di verifica)

Interpretazione dell'Aptima Assay*	**≥CIN2**	**≥CIN3**
	Rischio relativo (CI al 95%)	**Rischio relativo (CI al 95%)**
Pos HPV 16 e/o 18/45 rispetto a Neg HPV HR	20,9 (6,3, 69,3)	29,4 (7,2, 120,8)
Pos HPV 16 e/o 18/45 rispetto a Pos altri HPV HR	3,7 (1,5, 9,5)	5,3 (1,5, 18,2)
Pos altri HPV HR rispetto a Neg HPV HR	5,6 (1,8, 17,7)	5,6 (1,2, 26,0)
Pos HPV HR rispetto a Neg HPV HR	8,5 (2,9, 24,8)	10,1 (2,7, 38,2)
Prevalenza	0,9%	0,5%

CI = intervallo di confidenza, HR = alto rischio, Pos = positivo, Neg = negativo
*Le donne con risultati negativi all'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay per lo scopo dell'analisi.

Tabella 12: Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: rischio relativo di ≥CIN2 e ≥CIN3 per i risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay e dell'Aptima HPV assay (stime non adattate)

Interpretazione dell'Aptima Assay*	**≥CIN2**	**≥CIN3**
	Rischio relativo (CI al 95%)	**Rischio relativo (CI al 95%)**
Pos HPV 16 e/o 18/45 rispetto a Neg HPV HR	11,6 (3,8, 35,4)	49,7 (6,1, 406)
Pos HPV 16 e/o 18/45 rispetto a Pos altri HPV HR	3,4 (1,3, 9,0)	5,8 (1,7, 20,0)
Pos altri HPV HR rispetto a Neg HPV HR	3,4 (1,1, 10,3)	8,5 (1,0, 75,8)
Pos HPV HR rispetto a Neg HPV HR	5,1 (1,9, 13,8)	16,9 (2,2, 132)
Prevalenza	2,5% (20/803)	1,4% (11/803)

CI = intervallo di confidenza, HR = alto rischio, Pos = positivo, Neg = negativo
*Le donne con risultati negativi all'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay per lo scopo dell'analisi.

I rapporti di verosimiglianza (≥CIN2 e ≥CIN3) deducibili dal risultato dell'Aptima 16 18/45 Genotype assay sono riportati nella Tabella 13 (stime adattate per il bias di verifica) e nella Tabella 14 (stime non adattate). I tipi di HPV 16, 18 e/o 45 sono stati riscontrati con una probabilità di 17,1 volte superiore in una donna con ≥CIN2 e di 21,9 superiore in una donna con ≥CIN3.

Tabella 13: Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: rapporti di verosimiglianza per ≥CIN2 e ≥CIN3 in base ai risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay e dell'Aptima HPV assay (stime adattate per il bias di verifica)

Interpretazione del test Aptima Assay*	≥CIN2	≥CIN3
	Rapporto di verosimiglianza (CI al 95%)	Rapporto di verosimiglianza (CI al 95%)
Pos HPV 16 e/o 18/45	17,1 (6,2, 46,9)	21,9 (7,3, 65,2)
Pos altri HPV HR	4,2 (1,7, 10,1)	3,8 (1,2, 12,6)
Negativo all'HPV HR	0,7 (0,5, 1,0)	0,7 (0,4, 1,1)

CI = intervallo di confidenza, HR = alto rischio, Pos = positivo
*Le donne con risultati negativi all'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay per lo scopo dell'analisi.

Tabella 14: Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: rapporti di verosimiglianza e probabilità di malattia per ≥CIN2 e ≥CIN3 in base ai risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay e dell'Aptima HPV assay (stime adattate)

Interpretazione del test Aptima Assay*	≥CIN2	≥CIN3
	Rapporto di verosimiglianza (CI al 95%)	Rapporto di verosimiglianza (CI al 95%)
Pos HPV 16 e/o 18/45	5,1 (2,3, 9,1)	7,9 (3,5, 12,9)
Pos altri HPV HR	1,4 (0,7, 2,2)	1,2 (0,4, 2,3)
Negativo all'HPV HR	0,4 (0,1, 0,7)	0,1 (0,0, 0,6)

CI = intervallo di confidenza, HR = alto rischio, Pos = positivo
*Le donne con risultati negativi all'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay per lo scopo dell'analisi.

Prestazioni cliniche dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay con campioni per citologia in fase liquida SurePath

I campioni per citologia in fase liquida SurePath sono stati raccolti da donne canadesi a cui era stato richiesto un follow-up a causa di uno o più Pap test anomali, un'infezione da HPV o altri motivi. Un'aliquota (0,5 ml) di ciascun campione è stata trasferita all'interno di una provetta di trasporto del campione Aptima per poi essere trattata con la soluzione di trasporto Aptima. Un singolo replicato di ciascun campione è stato analizzato con l'Aptima HPV assay (n = 494). I campioni positivi sono stati quindi analizzati con l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay. Da ciascun campione è stata tolta un'aliquota a parte (1 ml) da valutare con un test per l'HPV basato sulla PCR disponibile in commercio (n = 557). Il rischio assoluto di malattia (≥CIN3) deducibile dal risultato dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay e dal risultato dell'Aptima HPV assay è riportato nella Tabella 15. Risultati simili sono riportati per il test per l'HPV basato sulla PCR disponibile in commercio, che distingue l'HPV 16 e l'HPV 18, ma non l'HPV 45, separatamente dagli altri genotipi ad alto rischio. Il rischio relativo di malattia per i risultati positivi del genotipo rispetto ai risultati negativi è riportato nella Tabella 16 per l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay e per il test per l'HPV basato sulla PCR.

Tabella 15: Rischio assoluto di ≥CIN3 per i risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay e per un test per l'HPV basato sulla PCR disponibile in commercio

Risultato HPV HR	Risultato genotipo	Interpretazione	Rischio assoluto ≥CIN3 Aptima (CI al 95%)	Rischio assoluto ≥CIN3 HPV PCR (CI al 95%)
Positivo	Pos HPV 16 e/o Pos HPV 18/45*	Pos HPV 16 e/o Pos HPV 18/45*	14,6 (9,6-19,5)	14,4 (10,4-18,1)
	Pos HPV 16 e Neg HPV 18/45*	Solo Pos HPV 16	19,4 (12,0-26,8)	16,8 (11,6-21,9)
	Neg HPV 16 e/o Pos HPV 18/45*	Solo Pos HPV 18/45*	3,3 (0,1-13,8)	7,1 (1,0-18,8)
	Pos HPV 16 e/o Pos HPV 18/45*	Pos HPV 16 e Pos HPV 18/45*	25,0 (1,3-75,2)	14,3 (0,7-49,9)
	Neg HPV 16 e/o Neg HPV 18/45*	Pos altri HPV HR	2,5 (1,4-3,7)	2,1 (1,1-3,3)
	Pos o Neg	Pos HPV HR	9,8 (8,1-11,2)	8,5 (7,0-9,5)
Negativo**	Neg HPV 16 e/o Neg HPV 18/45*	Neg HPV HR	1,0 (0,2-2,4)	1,1 (0,3-2,8)
		Prevalenza (%)	4,9%	5,0%

HR = alto rischio; Pos = positivo; Neg = negativo
*Il test per l'HPV basato sulla PCR distingue solo l'HPV 16 e l'HPV 18 dagli altri 12 genotipi ad alto rischio, incluso l'HPV 45.
**Le donne con risultati negativi per l'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay per lo scopo dell'analisi.

Tabella 16: Rischio relativo di ≥CIN3 per i risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay e per un test per l'HPV basato sulla PCR disponibile in commercio

Risultati dell'Aptima Assay		Risultati del test per l'HPV basato sulla PCR	
Interpretazione del test	Rischio relativo ≥CIN3 (CI al 95%)	Interpretazione del test	Rischio relativo ≥CIN3 (CI al 95%)
Positivo all'HPV 16 e/o 18/45 rispetto a negativo all'HPV HR	14,8 (4,3-50,3)	Positivo all'HPV 16 e/o 18 rispetto a Negativo all'HPV HR	12,6 (3,8-41,9)
Positivo all'HPV 16 e/o 18/45 rispetto a positivo agli altri HPV HR	2,0 (0,8-4,6)	Positivo all'HPV 16 e/o 18 rispetto a Positivo agli altri HPV HR	3,9 (1,6-9,5)
Positivo agli altri HPV HR rispetto a negativo all'HPV HR	7,5 (2,0-28,6)	Positivo agli altri HPV HR rispetto a negativo all'HPV HR	3,2 (0,8-12,8)
Positivo all'HPV HR rispetto a Negativo all'HPV HR	10,0 (3,0-32,7)	Positivo all'HPV HR rispetto a Negativo all'HPV HR	7,4 (2,3-24,3)
Prevalenza	4,9%	Prevalenza	5,0%

Prestazioni cliniche dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay con campioni prelevati con il kit di raccolta e trasporto dei campioni cervicali

I campioni CSCT sono stati prelevati dalle donne durante lo screening routinario o le visite di controllo e sono stati analizzati con l'Aptima HPV assay. I campioni CSCT residui (n = 378) con un risultato positivo all'Aptima HPV assay sono stati analizzati con l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay sul Tigris DTS System. Il genotipo dell'HPV di ciascun campione è stato determinato utilizzando un test di genotipizzazione del DNA. I campioni con risultati discordanti tra il test di genotipizzazione del DNA e l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay sono stati analizzati con un test convalidato di sequenziamento mediante PCR con trascrittasi inversa per risolvere lo stato HPV 16, HPV 18 e HPV 45. È stata determinata la concordanza clinica (positiva e negativa) per l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay per il rilevamento dell'HPV 16, 18 e 45 ad alto rischio. I risultati sono riportati nella Tabella 17.

Tabella 17: Concordanza clinica dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay sul Tigris DTS System per il rilevamento dell'HPV 16, 18 e 45 ad alto rischio in campioni CSCT

		Metodo di riferimento				Totale
		Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos HPV 16, Pos HPV 18/45	Neg HPV 16, Neg HPV 18/45	
Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay	Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	125	0	1	0	126
	Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	0	43	0	1	44
	Pos HPV 16, Pos HPV 18/45	0	0	8	1	9
	Neg HPV 16, Neg HPV 18/45	1	1	0	197	199
	Totale	126	44	9	199	378

Pos = positivo, Neg = negativo
Concordanza positiva: 98,3% (176 su 179) (CI al 95%: 95,2, 99,4)
Concordanza negativa: 99,0% (197 su 199) (CI al 95%: 96,4, 99,7)

Sensibilità analitica

Il limite di rilevamento (Limit of Detection, LOD) al cutoff clinico è una concentrazione che risulta positiva (al di sopra del cutoff clinico) nel 95% dei casi. Il LOD dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay è stato determinato analizzando i singoli campioni clinici negativi per citologia in fase liquida ThinPrep addizionati con trascritti *in vitro* di HPV a varie concentrazioni. Trenta replicati di ciascun livello di copie sono stati analizzati con ciascuno di tre lotti di reagenti, per un totale di 90 replicati. L'analisi è stata eseguita nell'arco di 6 giorni, con 3 sessioni analitiche al giorno e 5 replicati per ciascun genotipo analizzati in ogni sessione analitica. Il limite di rilevamento del 95% (Tabella 18) è stato calcolato dall'analisi della regressione probit dei risultati di positività per ciascun pannello di diluizione.

Tabella 18: Limite di rilevamento al cutoff clinico dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay

Target	Limite di rilevamento (CI al 95%)
HPV 16	57,3 (46,5 - 74,6)
HPV 18	84,8 (66,1 - 115,6)
HPV 45	60,0 (46,6 - 82,3)
SiHa	1,2 (0,9, 1,7)
HeLa	0,4 (0,3, 0,5)
MS751	2,6 (1,9, 4,2)

*Copie per reazione per trascritti *in vitro* e cellule per reazione per linee cellulari

Precisione del test

La precisione dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay è stata valutata in due studi utilizzando lo stesso pannello da 22 elementi. Lo studio 1 è stato condotto in 3 centri di analisi esterni per determinare la riproducibilità del test. Lo studio 2 è stato condotto internamente per determinare la precisione all'interno del laboratorio. Il pannello comprendeva 14 elementi positivi all'HPV 16 e/o 18/45 con concentrazioni pari o superiori al limite di rilevamento del test (positività attesa: ≥ 95%), 5 elementi positivi all'HPV 16 e/o 18/45 con concentrazioni inferiori al limite di rilevamento del test (positività attesa: da > 0% a < 25%) e 3 elementi negativi all'HPV. Gli elementi del pannello positivi all'HPV 16 e/o 18/45 sono stati preparati addizionando cellule in coltura infette da HPV (SiHa, HeLa e MS751; ATCC, Manassas, Virginia) a pool di campioni residui per citologia in fase liquida ThinPrep, oppure diluendo i campioni clinici di HPV 16, 18 e/o 45 in pool di campioni residui per citologia in fase liquida ThinPrep. Gli elementi del pannello negativi all'HPV sono stati preparati con pool di campioni per citologia in fase liquida ThinPrep.

Nello studio 1, 2 operatori in ciascuno dei 3 centri di analisi (1 strumento per centro) hanno eseguito 2 liste di lavoro dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay al giorno nell'arco di 3 giorni. L'analisi è stata condotta utilizzando 1 lotto di reagenti. Ogni lista di lavoro conteneva 3 replicati per ciascuno degli elementi del pannello di riproducibilità. Per ciascun elemento del pannello sono state analizzate centootto (108) singole provette di campione (3 centri x 1 strumento x 2 operatori x 1 lotto x 2 liste di lavoro al giorno x 3 giorni x 3 replicati). Nello studio 2, l'analisi è stata condotta internamente nell'arco di 20 giorni per un totale di 162 reazioni analizzate per ciascun elemento del pannello (1 centro x 3 strumenti x 3 operatori x 3 lotti x 2 liste di lavoro x 3 replicati).

Gli elementi del pannello sono descritti nella Tabella 19a e nella Tabella 19b, insieme a un riepilogo della concordanza con i risultati attesi rispettivamente per l'HPV 16 e l'HPV 18/45.

Tabella 19a: Studio di precisione 1 e 2 dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay: descrizione del pannello e concordanza percentuale con i risultati attesi per l'HPV 16

Descrizione del pannello (cellule/reazione)	HPV 16 Risultati attesi	Concordanza percentuale (CI al 95%)	
		Studio 1 (3 centri di analisi)	Studio 2 (1 centro di analisi)
Cellule SiHa (3,0 cellule)	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Cellule HeLa (0,6 cellule)	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Cellule MS751 (11,0 cellule)	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Campione clinico 1 HPV 16	Positivo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Campione clinico 1 HPV 18/45	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
Cellule SiHa (1,6 cellule) e cellule HeLa (3,3 cellule)	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
Cellule SiHa (1,6 cellule) e cellule MS751 (42,5 cellule)	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Cellule SiHa (15,7 cellule) e cellule HeLa (0,3 cellule)	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
Cellule SiHa (15,7 cellule) e cellule MS751 (4,3 cellule)	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Cellule SiHa (1,6 cellule)	Positivo	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
Cellule HeLa (0,3 cellule)	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
Cellule MS751 (4,3 cellule)	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Campione clinico 2 HPV 16	Positivo	97,2 (104/107) (92,1, 99,0)	94,4 (152/161) (88,7, 97,0)
Campione clinico 2 HPV 18/45	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Cellule SiHa (0,1 cellule)	Negativo	85,2 (92/108) (77,3, 90,7)	84,6 (137/162) (78,2, 89,3)
Cellule HeLa (0,02 cellule)	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Cellule MS751 (0,04 cellule)	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Campione clinico 3 HPV 16	Negativo	95,4 (103/108) (89,6, 98,0)	92,6 (150/162) (87,5, 95,7)
Campione clinico 3 HPV 18/45	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Campione clinico 1 negativo all'HPV	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Campione clinico 2 negativo all'HPV	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Campione clinico 3 negativo all'HPV	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)

CI = intervallo di confidenza per il punteggio

Nota - *la concordanza percentuale può essere stata influenzata dalle variazioni nell'aggiunta, nella diluizione e/o nella suddivisione in aliquote.*

Tabella 19b: Studio di precisione 1 e 2 dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay: descrizione del pannello e concordanza percentuale con i risultati attesi per l'HPV 18/45

Descrizione del pannello (cellule/reazione)	Concordanza percentuale (CI al 95%)		
	HPV 18/45 Risultati attesi	Studio 1 (3 centri di analisi)	Studio 2 (1 centro di analisi)
Cellule SiHa (3,0 cellule)	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
Cellule HeLa (0,6 cellule)	Positivo	93,5 (101/108) (87,2, 96,8)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
Cellule MS751 (11,0 cellule)	Positivo	92,6 (100/108) (86,1, 96,2)	92,6 (150/162) (87,5, 95,7)
Campione clinico 1 HPV 16	Negativo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Campione clinico 1 HPV 18/45	Positivo	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Cellule SiHa (1,6 cellule) e cellule HeLa (3,3 cellule)	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Cellule SiHa (1,6 cellule) e cellule MS751 (42,5 cellule)	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Cellule SiHa (15,7 cellule) e cellule HeLa (0,3 cellule)	Positivo	63,9 (69/108) (54,5, 72,3)	67,7 (109/161) (60,1, 74,4)
Cellule SiHa (15,7 cellule) e cellule MS751 (4,3 cellule)	Positivo	98,1 (106/108) (93,5, 99,5)	92,0 (149/162) (86,8, 95,3)
Cellule SiHa (1,6 cellule)	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Cellule HeLa (0,3 cellule)	Positivo	71,3 (77/108) (62,1, 79,0)	92,5 (149/161) (87,4, 95,7)
Cellule MS751 (4,3 cellule)	Positivo	86,1 (93/108) (78,3, 91,4)	69,1 (112/162) (61,6, 75,7)
Campione clinico 2 HPV 16	Negativo	100 (107/107) (96,5, 100)	99,4 (160/161) (96,6, 99,9)
Campione clinico 2 HPV 18/45	Positivo	88,0 (95/108) (80,5, 92,8)	79,6 (129/162) (72,8, 85,1)
Cellule SiHa (0,1 cellule)	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Cellule HeLa (0,02 cellule)	Negativo	92,6 (100/108) (86,1, 96,2)	86,4 (140/162) (80,3, 90,9)
Cellule MS751 (0,04 cellule)	Negativo	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
Campione clinico 3 HPV 16	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Campione clinico 3 HPV 18/45	Negativo	80,6 (87/108) (72,1, 86,9)	81,5 (132/162) (74,8, 86,7)
Campione clinico 1 negativo all'HPV	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Campione clinico 2 negativo all'HPV	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Campione clinico 3 negativo all'HPV	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)

CI = intervallo di confidenza per il punteggio

Nota - *la concordanza percentuale può essere stata influenzata dalle variazioni nell'aggiunta, nella diluizione e/o nella suddivisione in aliquote.*

Reattività crociata

La specificità analitica dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay è stata valutata con i pool dei campioni residui per citologia in fase liquida ThinPrep diluiti 1:2,9 in STM (paragonabili ai campioni trasferiti in una provetta di trasporto Aptima) e addizionati con batteri, lieviti o funghi in coltura, virus in coltura o trascritti *in vitro* di HPV non individuati dal test. Gli organismi e le concentrazioni di analisi per le quali non è stata osservata reattività crociata sono identificati nella Tabella 20. I criteri di studio per la valutazione dell'effetto della presenza dei microrganismi sulla specificità del test si sono basati sulla positività.

Tabella 20: Pannello di specificità analitica: organismi e concentrazione senza reattività crociata

Organismo	Concentrazione di analisi senza reattività crociata	Organismo	Concentrazione di analisi senza reattività crociata
Batteri			
Acinetobacter lwoffii	$1x10^6$ UFC/ml	*Lactobacillus acidophilus*	$1x10^6$ UFC/ml
Actinomyces israelii	$1x10^6$ UFC/ml	*Lactobacillus crispatus*	$1x10^6$ UFC/ml
Alcaligenes faecalis	$1x10^6$ UFC/ml	*Listeria monocytogenes*	$1x10^6$ UFC/ml
Atopobium vaginae	$1x10^6$ UFC/ml	*Mobiluncus curtisii*	$1x10^6$ UFC/ml
Bacteroides fragilis	$1x10^6$ UFC/ml	*Mycoplasma genitalium**	$2,5x10^6$ copie/ml
Bifidobacterium adolescentis	$1x10^6$ UFC/ml	*Mycoplasma hominis*	$1x10^6$ UFC/ml
Campylobacter jejuni	$1x10^6$ UFC/ml	*Neisseria gonorrhoeae*	$1x10^6$ UFC/ml
Chlamydia trachomatis	$1x10^5$ Unità infettanti/ml	*Peptostreptococcus magnus*	$1x10^6$ UFC/ml
Clostridium difficile	$1x10^6$ UFC/ml	*Prevotaella bivia*	$1x10^6$ UFC/ml
Corynebacterium genitalium	$1x10^6$ UFC/ml	*Propionibacterium acnes*	$1x10^6$ UFC/ml
Cryptococcus neoformans	$1x10^6$ UFC/ml	*Proteus vulgaris*	$1x10^6$ UFC/ml
Enterobacter cloacae	$1x10^6$ UFC/ml	*Pseudomonas aeruginosa*	$1x10^6$ UFC/ml
Enterococcus faecalis	$1x10^6$ UFC/ml	*Staphylococcus aureus*	$1x10^6$ UFC/ml
Escherichia coli	$1x10^6$ UFC/ml	*Staphylococcus epidermidis*	$1x10^6$ UFC/ml
Fusobacterium nucleatum	$1x10^6$ UFC/ml	*Streptococcus agalactiae*	$1x10^6$ UFC/ml
Gardnerella vaginalis	$1x10^6$ UFC/ml	*Streptococcus pyogenes*	$1x10^6$ UFC/ml
Haemophilus ducreyi	$1x10^6$ UFC/ml	*Ureaplasma urealyticum*	$1x10^6$ UFC/ml
Klebsiella pneumoniae	$1x10^6$ UFC/ml		
Genotipi di HPV ad alto rischio non individuati dal test*			
HPV 31	$2,5x10^6$ copie/ml	HPV 56	$2,5x10^6$ copie/ml
HPV 33	$2,5x10^6$ copie/ml	HPV 58	$2,5x10^6$ copie/ml
HPV 35	$2,5x10^6$ copie/ml	HPV 59	$2,5x10^6$ copie/ml
HPV 39	$2,5x10^6$ copie/ml	HPV 66	$2,5x10^6$ copie/ml
HPV 51	$2,5x10^6$ copie/ml	HPV 68	$2,5x10^6$ copie/ml
HPV 52	$2,5x10^6$ copie/ml		
Lieviti/protozoi			
Candida albicans	$1x10^6$ UFC/ml	*Trichomonas vaginalis***	$1x10^5$ cellule/ml
Virus			
Adenovirus	$5,25x10^7$ UFP/ml	HIV-1	$2,5x10^6$ copie/ml
Cytomegalovirus	$1,58x10^6$ $DICT_{50}$/ml	Virus dell'Herpes simplex 1	$3,39x10^6$ $DICT_{50}$/ml
Virus di Epstein-Barr	$1,59x10^5$ DT_{50}/ml	Virus dell'Herpes simplex 2	$2,29x10^6$ $DICT_{50}$/ml

Tabella 20: Pannello di specificità analitica: organismi e concentrazione senza reattività crociata *(continua)*

Organismo	Concentrazione di analisi senza reattività crociata	Organismo	Concentrazione di analisi senza reattività crociata
Altri genotipi di HPV non individuati dal test*			
HPV 6	$2{,}5x10^6$ copie/ml	HPV 53	$2{,}5x10^6$ copie/ml
HPV 11	$2{,}5x10^6$ copie/ml	HPV 67	$2{,}5x10^6$ copie/ml
HPV 26	$2{,}5x10^6$ copie/ml	HPV 69	$2{,}5x10^6$ copie/ml
HPV 30	$2{,}5x10^6$ copie/ml	HPV 70	$2{,}5x10^6$ copie/ml
HPV 34	$2{,}5x10^6$ copie/ml	HPV 73	$2{,}5x10^6$ copie/ml
HPV 42	$2{,}5x10^6$ copie/ml	HPV 82	$2{,}5x10^6$ copie/ml
HPV 43	$2{,}5x10^6$ copie/ml	HPV 85	$2{,}5x10^6$ copie/ml
HPV 44	$2{,}5x10^6$ copie/ml		

UFC = unità formanti colonie, UFP = unità formanti placche, DT_{50} = dose di trasformazione mediana, $DICT_{50}$ = dose infettante mediana per colture di tessuti
*Trascritto *in vitro* analizzato.
**Nonostante non sia stato riscontrato alcun tipo di reattività crociata per Trichomonas vaginalis, è stata osservata un'interferenza (vedere sotto).

La sensibilità analitica dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay in presenza di microrganismi è stata valutata con lo stesso pannello descritto nella Tabella 20, che è stato anche addizionato con una bassa concentrazione di cellule SiHa infettate da HPV (1,6 cellule per reazione) e con cellule HeLa infettate da HPV (0,3 cellule per reazione). I criteri di studio per la valutazione dell'effetto della presenza dei microrganismi sulla sensibilità del test si sono basati sulla positività. La presenza dei microrganismi non ha interferito con l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay ad eccezione di Trichomonas vaginalis (TV). L'interferenza è stata osservata quando TV era presente in concentrazioni superiori a 3×10^4 cellule/ml.

Interferenza

Le sostanze descritte nella Tabella 21 sono state aggiunte singolarmente ai pool di campioni per citologia in fase liquida ThinPrep diluiti 1:2,9 in STM alle concentrazioni specificate nella tabella. Tutte le sostanze sono state analizzate con l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay in presenza e in assenza di cellule in coltura infette da HPV (SiHa, 1,6 cellule/reazione e HeLa, 0,3 cellule/reazione). L'interferenza è stata osservata con le seguenti sostanze se presenti in concentrazioni superiori a quelle specificate: lubrificanti vaginali (contenenti Polyquaternium 15) in concentrazione 1% p/v, crema antimicotica (contenente tioconazolo) in concentrazione 0,03% p/v, muco in concentrazione 0,3% p/v, ormoni intravaginali (contenenti progesterone) in concentrazione 1% p/v.

Tabella 21: Sostanze analizzate per una possibile interferenza con l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay

Categoria di prodotto	Tipo e marca del prodotto	Concentrazione più alta analizzata che non ha interferito con il test*
Lubrificante vaginale	Liquido lubrificante KY natural feeling	10% v/v
	Liquido lubrificante intimo up & up (marca Target)	
	Astroglide**	1% p/v
Gelatina spermicida/ contraccettivo	Schiuma contraccettiva vaginale (Vaginal Contraceptive Foam, VCF)	10% p/v
	Gel contraccettivo vaginale Options Conceptrol	
Crema antimicotica	Miconazolo 3 up & up (marca Target)	10% p/v
	Monistat 3 Combination Pack	
	up & up (marca Target) Tioconazolo 1	0,03% p/v
Lavanda vaginale	Lavanda vaginale Summer's Eve	10% v/v
	Lavanda vaginale up & up (marca Target)	
Spray donna	Deodorante spray donna Summer's Eve	10% p/v
	Deodorante spray donna FDS	
Muco	Mucina di suino	0,3% p/v
Ormoni intravaginali	Crema vaginale Estrace (estrogeni)	10% p/v
	Crema Crinone (progesterone)	1% p/v
Sangue intero* **	Sangue intero	5% v/v
Leucociti	Leucociti	$1x10^7$ cellule/ml
Soluzione di lavaggio a base di acido acetico glaciale^	Acido acetico glaciale + soluzione CytoLyt	2,6% v/v

*Concentrazione nel campione di analisi; campione per citologia in fase liquida ThinPrep diluito 1:2,9 in STM (paragonabile al campione trasferito in una provetta di trasporto Aptima).

**Lubrificante intimo contenente Polyquaternium 15.

***Il sangue intero ha interferito con il test se presente a una concentrazione di analisi del 10% v/v.

^Soluzione di lavaggio a base di acido acetico glaciale preparata miscelando 1 parte di acido acetico glaciale e 9 parti di soluzione CytoLyt come spiegato nel *Manuale dell'operatore del ThinPrep 2000 System* (ThinPrep 2000 System Operator's Manual).

Risultati attesi sul Panther System: prevalenza di mRNA dell'HPV ad alto rischio

La prevalenza delle infezioni da HPV ad alto rischio varia notevolmente ed è influenzata da diversi fattori fra i quali l'età, che contribuisce in misura maggiore.[19,20] Molti studi hanno esaminato la prevalenza dell'HPV in base ai dati ottenuti dal rilevamento del DNA dell'HPV, tuttavia sono pochi gli studi che riportano la prevalenza in base al rilevamento dell'mRNA dell'HPV oncogeno. Donne provenienti da numerosi centri clinici (n = 18) rappresentative di un'ampia distribuzione geografica e di una popolazione variegata (10 stati all'interno degli Stati Uniti) sono state inserite in uno studio clinico prospettico noto come sperimentazione CLEAR per valutare l'Aptima HPV assay, che consente di individuare 14 tipi di HPV ad alto rischio.[21] I campioni prelevati dalle donne inserite nella sperimentazione CLEAR con risultati positivi all'Aptima HPV assay sul Panther System sono stati valutati in tre centri di analisi con l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay sul Panther System in uno studio clinico separato. La prevalenza dell'HPV 16, 18/45 come pure dei restanti 11 tipi di HPV ad alto rischio, osservata nello studio clinico in base ai risultati dei test eseguiti con l'Aptima HPV assay e con l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay sul Panther System, è stata suddivisa in categorie, complessivamente, per gruppo di età e centro di analisi. Un risultato negativo all'Aptima HPV assay sul Panther System indica che non è presente nessuno dei 14 tipi di HPV ad alto rischio e che questi tipi sono stati designati come negativi per l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay sul Panther System per lo scopo dell'analisi. I risultati sono riportati nella Tabella 22 per le popolazioni cellule squamose atipiche di significato indeterminato (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance, ASC-US) e negative per lesione intraepiteliale o malignità (Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy, NILM).

Tabella 22: Prevalenza di mRNA dell'HPV ad alto rischio nelle popolazioni suddivise per gruppo di età, centro di analisi e totale delle due

	Percentuale di positività % (x/n)							
	Popolazione ASC-US (≥ 21 anni)				Popolazione NILM (≥ 30 anni)			
	Pos HPV 16	Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e 18/45	Pos 11 altri tipi HR*	Pos HPV 16	Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e 18/45	Pos 11 altri tipi HR*
Tutti	7,8 (71/911)	5,3 (48/911)	0,3 (3/911)	26,0 (237/911)	0,5 (50/10.839)	0,5 (49/10.839)	< 0,1 (1/10.839)	3,6 (391/10.839)
Gruppo di età (anni)								
Da 21 a 29	13,4 (52/388)	5,2 (20/388)	0,5 (2/388)	37,9 (147/388)	N/P	N/P	N/P	N/P
Da 30 a 39	5,5 (14/255)	6,7 (17/255)	0,4 (1/255)	23,1 (59/255)	0,7 (31/4.183)	0,7 (31/4.183)	0 (0/4.183)	5,1 (215/4.183)
≥ 40	1,9 (5/268)	4,1 (11/268)	0 (0/268)	11,6 (31/268)	0,3 (19/6.656)	0,3 (18/6.656)	< 0,1 (1/6.656)	2,6 (176/6.656)
Centro di analisi								
1	5,6 (17/304)	6,6 (20/304)	0,3 (1/304)	27,0 (82/304)	0,4 (16/3.610)	0,4 (16/3.610)	< 0,1 (1/3.610)	3,6 (130/3.610)
2	9,6 (29/303)	3,6 (11/303)	0,3 (1/303)	26,4 (80/303)	0,5 (18/3.614)	0,4 (15/3.614)	0 (0/3.614)	3,6 (130/3.614)
3	8,2 (25/304)	5,6 (17/304)	0,3 (1/304)	24,7 (75/304)	0,4 (16/3.615)	0,5 (18/3.615)	0 (0/3.615)	3,6 (131/3.615)

N/P = Non pertinente, HR = alto rischio, Pos = positivo
Nota - le donne con risultati negativi all'Aptima HPV assay sul Panther System sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay sul Panther System per lo scopo dell'analisi.
* HPV di tipo 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68
** Nella popolazione NILM, non tutti i soggetti con risultati negativi all'Aptima HPV assay sul Panther System sono stati analizzati con l'Aptima 16 18/45 Genotype assay sul Panther System. Per l'analisi effettuata in base al centro di analisi, i risultati per queste donne sono stati assegnati in modo casuale ad uno dei 3 centri.

Prestazioni del Panther System Assay

Progetto di sperimentazione clinica dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay con campioni per citologia in fase liquida ThinPrep

L'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay sul Panther System è stato valutato utilizzando campioni citologici di riferimento prelevati da donne consenzienti durante lo studio clinico prospettico multicentrico effettuato negli Stati Uniti, noto come sperimentazione CLEAR. La sperimentazione CLEAR è stata condotta allo scopo di determinare le prestazioni cliniche dell'Aptima HPV assay sul Tigris DTS System per il rilevamento della neoplasia intraepiteliale cervicale di grado 2 o della cervicopatia di grado più alto (≥CIN2). Le donne sono state inserite nello studio ASC-US o nello studio NILM in base ai risultati citologici degli esami di riferimento eseguiti in fase liquida ThinPrep ottenuti durante uno screening routinario del tumore della cervice. La popolazione dello studio ASC-US includeva donne di età pari o superiore a 21 anni con risultati citologici ASC-US e la popolazione dello studio NILM includeva donne di età pari o superiore a 30 anni con risultati citologici NILM.

Sono state analizzate donne provenienti da 18 centri clinici, principalmente cliniche di ostetricia e ginecologia, con un'ampia distribuzione geografica e una popolazione variegata. Durante la sperimentazione CLEAR, i campioni citologici residui di riferimento sono stati analizzati con l'Aptima HPV assay sul Tigris DTS System e con un test per il DNA dell'HPV approvato dall'FDA. I campioni citologici residui di riferimento risultati idonei dalla sperimentazione CLEAR sono stati analizzati con l'Aptima HPV assay sul Panther System. Per la sperimentazione clinica dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, i campioni ottenuti dai campioni citologici residui di riferimento sono stati analizzati con l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay sul Panther System.

Tutte le donne inserite nello studio ASC-US sono state sottoposte a colposcopia, indipendentemente dai risultati del test dell'HPV. Sono stati effettuati due tipi di prelievo: una biopsia con raschiamento endocervicale (Endocervical Curettage, ECC) e una biopsia con puntura cervicale (1 biopsia da ciascuno dei 4 quadranti). Se la lesione era visibile, la biopsia è stata eseguita con puntura (metodo diretto, 1 biopsia per lesione), mentre per i quadranti che non mostravano una lesione visibile la biopsia è stata eseguita alla giunzione squamocolonnare (metodo random).

Nello studio NILM, le donne positive all'Aptima HPV assay sul Tigris DTS System e/o al test del DNA dell'HPV approvato dall'FDA, come pure donne scelte a caso negative a entrambi i test sono state sottoposte a colposcopia per una valutazione preliminare. A ciascuna donna sottoposta a colposcopia è stata effettuata una biopsia ECC. Le biopsie sono state effettuate con puntura solo in presenza di lesioni visibili (metodo diretto, 1 biopsia per lesione). Per le donne dello studio NILM che non presentano ≥CIN2 sono state programmate visite di controllo per 3 anni con esami citologici annuali. Le donne che durante il periodo di controllo mostrano ASC-US o risultati citologici più rilevanti vengono sottoposte a colposcopia utilizzando la stessa procedura bioptica eseguita per la valutazione preliminare.

Lo stato della malattia è stato determinato mediante un pannello di valutazione consensuale degli esami istologici, basato sulle valutazioni concordanti di almeno 2 patologi esperti. I patologi esperti sono stati tenuti all'oscuro dello stato citologico e di infezione da HPV delle donne, nonché delle rispettive diagnosi istologiche. Per evitare il bias, gli sperimentatori, i medici e le donne sono stati tenuti all'oscuro dei risultati del test dell'HPV fino al completamento dell'esame colposcopico.

Al fine di convalidare l'uso previsto dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay sul Panther System come reflex test per un campione positivo per l'Aptima HPV assay, i campioni citologici residui di riferimento prelevati da tutte le donne valutabili nello studio ASC-US e

nello studio NILM con un risultato positivo per l'Aptima HPV assay sono risultati idonei all'analisi con l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay sul Panther System. Sono state valutate le prestazioni cliniche dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay sul Panther System per il rilevamento di ≥CIN2 e della neoplasia intraepiteliale cervicale di grado 3 o superiore (≥CIN3).

Popolazione ASC-US di età pari o superiore a 21 anni: prestazioni cliniche dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay con campioni per citologia in fase liquida ThinPrep

Complessivamente, sono state valutate 404 donne di età pari o superiore a 21 anni con risultati citologici ASC-US e risultati positivi all'Aptima HPV assay sul Panther System, i cui campioni citologici di riferimento sono risultati idonei per l'analisi con l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay sul Panther System. Di queste, 45 non avevano un volume sufficiente di campioni citologici di riferimento da analizzare in questo studio e 6 hanno avuto una diagnosi di malattia indeterminata; dopo un'analisi dei valori mancanti, queste donne sono state escluse dai calcoli delle prestazioni. Le 353 donne valutabili con stato conclamato della malattia hanno fornito risultati validi per l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay sul Panther System in base al reflex test da un risultato positivo per l'Aptima HPV assay sul Panther System. Sessantasette (67) donne hanno avuto una diagnosi ≥CIN2 e 30 hanno avuto una diagnosi ≥CIN3.

Delle 353 donne valutabili con risultati positivi per l'Aptima HPV assay sul Panther System, 118 donne hanno fornito risultati positivi per l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay sul Panther System, indicativi della presenza dell'HPV 16 e/o dell'HPV 18/45; 235 hanno fornito risultati negativi, indicativi della presenza di uno o più degli altri 11 tipi di HPV ad alto rischio, come rilevato dall'Aptima HPV assay (ossia, HPV di tipo 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68). Un altro gruppo di 539 donne valutabili di età pari o superiore a 21 anni con risultati citologici ASC-US ha fornito risultati negativi per l'Aptima HPV assay sul Panther System. Un risultato negativo all'Aptima HPV assay indica che non è presente nessuno dei 14 tipi di HPV ad alto rischio e che questi tipi sono stati designati come negativi per l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay sul Panther System per lo scopo dell'analisi. La prevalenza di diagnosi ≥CIN2 e ≥CIN3 nelle donne valutabili con risultati citologici ASC-US è stata rispettivamente del 9,1% e del 3,8%. Nella Tabella 23 sono illustrati i risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay rispetto al risultato dell'Aptima HPV assay e alla diagnosi effettuata con il pannello di valutazione consensuale degli esami istologici, in base all'analisi effettuata con il Panther System.

Tabella 23: Popolazione ASC-US di età pari o superiore a 21 anni: risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay e dell'Aptima HPV assay ottenuti dalla diagnosi effettuata con il pannello di valutazione consensuale degli esami istologici

Risultato dell'Aptima HPV Assay	Risultato dell'AHPV-GT Assay*	Interpre-tazione	Diagnosi con pannello di valutazione consensuale degli esami istologici						
			Indeterminato**	Normale	CIN1	CIN2	CIN3	Cancro	Totale
Positivo	Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	Pos HPV 16	1	26	18	11	15	0	71
	Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos HPV 18/45	3	23	16	2	3	1	48
	Pos HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e 18/45	0	1	0	1	1	0	3
	Neg HPV 16, Neg HPV 18/45	Pos altri HPV HR	2	132	70	23	10	0	237
		Totale	6	182	104	37	29	1	359
Negativo	Neg HPV 16/18/45***	Neg HPV HR	13	450	75	10	4	0	552
		Totale	19	632	179	47	33	1****	911

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, CIN1 = neoplasia intraepiteliale cervicale di grado 1, HR = alto rischio, Neg = negativo, Pos = positivo
*Tutti i campioni hanno fornito risultati finali (dall'analisi finale o dopo la risoluzione dei risultati iniziali non validi per cause procedurali).
**19 donne sono state sottoposte a esame colposcopico ma non è stato possibile effettuare una diagnosi per i seguenti motivi: < 5 campioni bioptici tutti con risultati istologici Normale/CIN1 (n = 15), nessun prelievo bioptico (n = 3) e vetrini di biopsia smarriti (n = 1).
***Le donne con risultati negativi per l'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay per lo scopo dell'analisi.
****Una donna ha avuto una diagnosi di adenocarcinoma in situ (AIS).

Il rischio assoluto di malattia (≥CIN2 e ≥CIN3) deducibile dal risultato dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay e dal risultato dell'Aptima HPV assay è riportato nella Tabella 24. Il rischio di ≥CIN2 nelle donne in cui era presente l'HPV di tipo 16, 18 e/o 45 è stato del 28,8% rispetto al 14,0% nelle donne in cui erano presenti uno o più degli altri 11 tipi di HPV ad alto rischio e al 2,6% nelle donne in cui non era presente alcun tipo di HPV ad alto rischio. Il rischio assoluto è riportato per gruppo di età nella Tabella 25.

Tabella 24: Popolazione ASC-US di età pari o superiore a 21 anni: rischio assoluto di ≥CIN2 e ≥CIN3 per i risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay e dell'Aptima HPV assay

Risultato dell'Aptima HPV Assay	Risultato dell'AHPV-GT Assay	Interpretazione	≥CIN2	≥CIN3
			Rischio assoluto (CI al 95%)	Rischio assoluto (CI al 95%)
Positivo	Pos HPV 16 e/o Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e/o HPV 18/45	28,8 (34/118) (22,2, 35,7)	16,9 (20/118) (12,1, 21,8)
	Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	Solo Pos HPV 16	37,1 (26/70) (27,4, 47,4)	21,4 (15/70) (13,8, 29,5)
	Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	Solo Pos HPV 18/45	13,3 (6/45) (5,5, 25,1)	8,9 (4/45) (2,9, 19,1)
	Pos HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e 18/45	66,7 (2/3) (15,2, 98,2)	33,3 (1/3) (1,8, 84,6)
	Neg HPV 16/18/45	Pos altri HPV HR	14,0 (33/235) (10,7, 17,7)	4,3 (10/235) (2,3, 6,7)
	Pos o Neg	Pos HPV HR	19,0 (67/353) (16,8, 21,1)	8,5 (30/353) (7,1, 9,6)
Negativo	Neg HPV 16/18/45*	Neg HPV HR	2,6 (14/539) (1,5, 4,0)	0,7 (4/539) (0,2, 1,6)
		Prevalenza	9,1% (81/892)	3,8% (34/892)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, HR = alto rischio, Pos = positivo, Neg = negativo
*Le donne con risultati negativi per l'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay per lo scopo dell'analisi.

Tabella 25: Popolazione ASC-US di età pari o superiore a 21 anni: rischio assoluto di ≥CIN2 e ≥CIN3 per i risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay e dell'Aptima HPV assay per gruppo di età

	Risultato dell'Aptima HPV Assay	Risultato dell'AHPV-GT Assay	Interpretazione	≥CIN2	≥CIN3
				Rischio assoluto (CI al 95%)	Rischio assoluto (CI al 95%)
Da 21 a 29 anni	**Positivo**	Pos HPV 16 e/o Pos HPV 18/45	**Pos HPV 16 e/o HPV 18/45**	27,4 (20/73) (19,0, 36,2)	16,4 (12/73) (10,3, 22,5)
		Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	**Solo Pos HPV 16**	29,4 (15/51) (18,8, 41,1)	19,6 (10/51) (11,3, 28,5)
		Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	**Solo Pos HPV 18/45**	15,0 (3/20) (3,6, 34,6)	5,0 (1/20) (0,2, 21,6)
		Pos HPV 16, Pos HPV 18/45	**Pos HPV 16 e 18/45**	100 (2/2) (27,0, 100)	50,0 (1/2) (2,9, 97,1)
		Neg HPV 16/18/45	**Pos altri HPV HR**	17,1 (25/146) (12,7, 21,7)	5,5 (8/146) (2,8, 8,6)
		Pos o Neg	**Pos HPV HR**	20,5 (45/219) (17,9, 23,0)	9,1 (20/219) (7,5, 10,2)
	Negativo	Neg HPV 16/18/45*	**Neg HPV HR**	4,2 (7/166) (1,9, 7,6)	0,6 (1/166) (0,0, 2,7)
			Prevalenza	13,5% (52/385)	5,5% (21/385)
Da 30 a 39 anni	**Positivo**	Pos HPV 16 e/o Pos HPV 18/45	**Pos HPV 16 e/o HPV 18/45**	30,0 (9/30) (16,5, 43,9)	16,7 (5/30) (6,9, 26,2)
		Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	**Solo Pos HPV 16**	50,0 (7/14) (24,2, 74,2)	21,4 (3/14) (5,1, 41,6)
		Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	**Solo Pos HPV 18/45**	13,3 (2/15) (1,3, 35,2)	13,3 (2/15) (1,3, 32,1)
		Pos HPV 16, Pos HPV 18/45	**Pos HPV 16 e 18/45**	0 (0/1) (0,0, 93,5)	0 (0/1) (0,0, 93,3)
		Neg HPV 16/18/45	**Pos altri HPV HR**	12,1 (7/58) (5,7, 19,5)	3,4 (2/58) (0,5, 8,5)
		Pos o Neg	**Pos HPV HR**	18,2 (16/88) (13,4, 22,3)	8,0 (7/88) (4,6, 10,0)
	Negativo	Neg HPV 16/18/45*	**Neg HPV HR**	1,8 (3/163) (0,4, 4,3)	0,6 (1/163) (0,0, 2,4)
			Prevalenza	7,6% (19/251)	3,2% (8/251)
≥ 40 anni	**Positivo**	Pos HPV 16 e/o Pos HPV 18/45	**Pos HPV 16 e/o HPV 18/45**	33,3 (5/15) (12,4, 55,0)	20,0 (3/15) (4,1, 36,0)
		Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	**Solo Pos HPV 16**	80,0 (4/5) (36,8, 99,0)	40,0 (2/5) (6,3, 78,2)
		Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	**Solo Pos HPV 18/45**	10,0 (1/10) (0,4, 36,6)	10,0 (1/10) (0,4, 33,1)
		Pos HPV 16, Pos HPV 18/45	**Pos HPV 16 e 18/45**	--- (0/0)	--- (0/0)
		Neg HPV 16/18/45	**Pos altri HPV HR**	3,2 (1/31) (0,1, 13,2)	0 (0/31) (0,0, 7,8)
		Pos o Neg	**Pos HPV HR**	13,0 (6/46) (6,1, 19,7)	6,5 (3/46) (1,7, 10,9)
	Negativo	Neg HPV 16/18/45*	**Neg HPV HR**	1,9 (4/210) (0,6, 3,4)	1,0 (2/210) (0,1, 2,0)
			Prevalenza	3,9% (10/256)	2,0% (5/256)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, HR = alto rischio, Pos = positivo, Neg = negativo
*Le donne con risultati negativi per l'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay per lo scopo dell'analisi.

Il rischio relativo di contrarre la malattia per i risultati positivi rispetto ai risultati negativi all'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay è riportato nella Tabella 26. Nelle donne in cui è stata riscontrata la presenza dell'HPV di tipo 16, 18 e/o 45, la probabilità di avere una diagnosi ≥CIN2 è stata 11,1 volte maggiore e la probabilità di avere una diagnosi ≥CIN3 è stata 22,8 volte maggiore rispetto alle donne in cui non è stato riscontrato alcun tipo di HPV ad alto rischio. Nelle donne in cui è stata riscontrata la presenza dell'HPV di tipo 16, 18 e/o 45, la probabilità di avere una diagnosi ≥CIN2 è stata 2,1 volte maggiore e la probabilità di avere una diagnosi ≥CIN3 è stata 4,0 volte maggiore rispetto alle donne in cui sono stati riscontrati uno o più degli altri 11 tipi di HPV ad alto rischio.

Tabella 26: Popolazione ASC-US di età pari o superiore a 21 anni: rischio relativo di ≥CIN2 e ≥CIN3 per i risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay e dell'Aptima HPV assay

Interpretazione dei risultati dell'Aptima Assay*	≥CIN2	≥CIN3
	Rischio relativo (CI al 95%)	Rischio relativo (CI al 95%)
Positivo all'HPV 16 e/o 18/45 rispetto a negativo all'HPV HR	11,1 (6,2, 20,0)	22,8 (8,0, 65,6)
Positivo all'HPV 16 e/o 18/45 rispetto a positivo agli altri HPV HR	2,1 (1,3, 3,1)	4,0 (1,9, 8,2)
Positivo agli altri HPV HR rispetto a negativo all'HPV HR	5,4 (2,9, 9,9)	5,7 (1,8, 18,1)
Positivo all'HPV HR rispetto a negativo all'HPV HR	7,3 (4,2, 12,8)	11,5 (4,1, 32,2)
Prevalenza	9,1% (81/892)	3,8% (34/892)

CI = intervallo di confidenza, HR = alto rischio
*Le donne con risultati negativi per l'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay per lo scopo dell'analisi.

I rapporti di verosimiglianza (≥CIN2 e ≥CIN3) deducibili dal risultato dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay sono riportati nella Tabella 27. L'HPV di tipo 16, 18 e/o 45 è stato riscontrato con una probabilità 4,1 volte superiore in una donna con ≥CIN2 e 5,2 volte superiore in una donna con ≥CIN3.

Tabella 27: Popolazione ASC-US di età pari o superiore a 21 anni: rapporti di verosimiglianza per ≥CIN2 e ≥CIN3 in base ai risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay e dell'Aptima HPV assay

Interpretazione dei risultati dell'Aptima Assay*	≥CIN2	≥CIN3
	Rapporto di verosimiglianza (CI al 95%)	Rapporto di verosimiglianza (CI al 95%)
Positivo all'HPV 16 e/o 18/45	4,1 (2,9, 5,6)	5,2 (3,5, 7,0)
Positivo agli altri HPV HR	1,6 (1,2, 2,1)	1,1 (0,6, 1,8)
Negativo all'HPV HR	0,3 (0,2, 0,4)	0,2 (0,1, 0,4)

CI = intervallo di confidenza, HR = alto rischio
*Le donne con risultati negativi per l'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay per lo scopo dell'analisi.

Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: prestazioni cliniche dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay con campioni per citologia in fase liquida ThinPrep

Complessivamente, sono state valutate 512 donne di età pari o superiore a 30 anni con risultati citologici NILM e risultati positivi all'Aptima HPV assay sul Panther System, i cui campioni citologici di riferimento sono risultati idonei per l'analisi con l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay. Di queste, 21 non avevano un volume sufficiente di campioni citologici di riferimento da analizzare in questo studio (11 sono state sottoposte a colposcopia e 10 no); dopo un'analisi dei valori mancanti, queste donne sono state escluse dai calcoli delle prestazioni. Le 491 donne valutabili hanno fornito risultati validi per l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay. Di queste, 273 sono state sottoposte a colposcopia. Quattordici (14) donne hanno avuto una diagnosi ≥CIN2 e 10 una diagnosi ≥CIN3; 245 donne hanno avuto una diagnosi istologica Normale/CIN1; 14 donne hanno avuto una diagnosi di stato indeterminato della malattia.

Delle 259 donne valutabili con stato conclamato della malattia e risultati positivi per l'Aptima HPV assay sul Panther System, 65 hanno fornito risultati positivi all'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay sul Panther System, indicativi della presenza dell'HPV 16 e/o dell'HPV 18/45; 194 hanno fornito risultati negativi indicativi della presenza di uno o più degli altri 11 tipi di HPV ad alto rischio. Un altro gruppo di 549 donne valutabili di età pari o superiore a 30 anni con risultati citologici NILM e stato conclamato della malattia ha fornito risultati negativi per l'Aptima HPV assay sul Panther System. Un risultato negativo all'Aptima HPV assay indica che non è presente nessuno dei 14 tipi di HPV ad alto rischio e che questi tipi sono stati designati come negativi per l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay sul Panther System per lo scopo dell'analisi. I risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay rispetto al risultato dell'Aptima HPV assay e alla diagnosi effettuata con il pannello di valutazione consensuale degli esami istologici sono riportati nella Tabella 28.

Tabella 28: Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay e dell'Aptima HPV assay ottenuti dalla diagnosi effettuata con il pannello di valutazione consensuale degli esami istologici

Risultato dell'Aptima HPV Assay	Risultato dell'AHPV-GT Assay*	Interpretazione	Diagnosi con pannello di valutazione consensuale degli esami istologici						
			Indeterminato**	Normale	CIN1	CIN2	CIN3	Cancro	Totale
Positivo	Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	Pos HPV 16	2	28	0	0	3	1	34
	Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos HPV 18/45	1	28	1	1	0	2	33
	Pos HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e 18/45	0	1	0	0	0	0	1
	Neg HPV 16, Neg HPV 18/45	Pos altri HPV HR	11	175	12	3	4	0	205
		Totale	14	232	13	4	7	3	273
Negativo	Neg HPV 16/18/45***	Neg HPV HR	31	527	16	5	1	0	580
		Totale	45	759	29	9	8	3****	853

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, HR = alto rischio, Pos = positivo, Neg = negativo
*Tutti i campioni hanno fornito risultati finali validi (dall'analisi iniziale o dopo la risoluzione dei risultati iniziali non validi per cause procedurali).
**45 donne sono state sottoposte a esame colposcopico ma non è stato possibile effettuare una diagnosi per i seguenti motivi: non è stato raggiunto il consenso a causa dei campioni inadeguati (n = 29), nessun prelievo bioptico a causa di fattori sottesi (n = 13), nessun prelievo o esame bioptico effettuato a causa di errori (n = 3).
***Le donne con risultati negativi per l'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay per lo scopo dell'analisi.
****Tre donne hanno avuto una diagnosi di adenocarcinoma in situ (AIS).

Delle 491 donne con risultati positivi per l'Aptima HPV assay sul Panther System e risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay sul Panther System, 232 donne hanno avuto una diagnosi di stato della malattia non verificato (incluso lo stato non determinato) (Tabella 29). Delle 10.348 donne con risultati negativi per l'Aptima HPV assay ottenuti dalla sperimentazione CLEAR originale, 9.799 hanno avuto una diagnosi di stato della malattia non verificato. Poiché lo studio era stato progettato in modo tale da sottoporre a colposcopia solo donne scelte a caso con risultati negativi sia per l'Aptima HPV assay sul Tigris DTS System che per il test del DNA approvato dall'FDA, in questo gruppo è stata ottenuta un'elevata percentuale di donne con stato della malattia non verificato (96,2%). Per correggere questo bias di verifica, è stato utilizzato un metodo di imputazione multipla per stimare il numero di donne con malattia che sarebbe stato identificato se tutte fossero state sottoposte a colposcopia. Sono state riportate sia le stime delle prestazioni adattate per il bias di verifica sia le stime delle prestazioni non adattate, basate sulle 808 donne con stato della malattia verificato.

Tabella 29: Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: classificazione delle donne NILM valutabili in base ai risultati dell'Aptima HPV assay, dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, del test del DNA dell'HPV, stato della malattia (≥CIN2 e ≥CIN3) e stato di verifica della malattia

Risultato dell'Aptima HPV Assay*	Risultato dell'AHPV-GT Assay*	Test del DNA dell'HPV	Donne totali	Stato della malattia verificato: ≥CIN2		Stato della malattia verificato: ≥CIN3		Stato della malattia non verificato
				Donne malate (≥CIN2)	Donne non malate (<CIN2)	Donne malate (≥CIN3)	Donne non malate (<CIN3)	Donne con stato della malattia sconosciuto (% sconosciuto)
Positivo	Positivo	Positivo	88	6	52	5	53	30 (34,1%)
	Positivo	Negativo	10	1	5	1	5	4 (40,0%)
	Positivo	Nessun risultato**	2	0	1	0	1	1 (50,0%)
	Negativo	Positivo	291	7	169	4	172	115 (39,5%)
	Negativo	Negativo	85	0	14	0	14	71 (83,5%)
	Negativo	Nessun risultato**	15	0	4	0	4	11 (73,3%)
		Totale	491	14	245	10	249	232 (47,3%)
Negativo	N/P***	Positivo	282	3	177	1	179	102 (36,2%)
	N/P***	Negativo	9.467	2	362	0	364	9.103 (96,2%)
	N/P***	Nessun risultato**	599	1	4	0	5	594 (99,2%)
		Totale	10.839	20	788	11	797	10.031 (92,5%)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, N/P = non pertinente
*Tutti i campioni hanno fornito risultati finali validi (dall'analisi iniziale o dopo la risoluzione dei risultati iniziali non validi per cause procedurali).
**Per 616 donne con risultati dell'Aptima HPV assay non è stato possibile ottenere i risultati del test del DNA dell'HPV principalmente a causa del volume insufficiente di campione citologico.
***Le donne con risultati negativi per l'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay per lo scopo dell'analisi.

Le percentuali adattate di rischio assoluto di malattia (≥CIN2 e ≥CIN3) deducibili dal risultato dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay e dal risultato dell'Aptima HPV assay sono riportate nella Tabella 30a. Il rischio di ≥CIN2 nelle donne in cui era presente l'HPV di tipo 16, 18 e/o 45 è stato del 10,8% rispetto al 3,8% nelle donne in cui erano presenti uno o più degli altri 11 tipi di HPV ad alto rischio e al 1,0% nelle donne in cui non era presente alcun tipo di HPV ad alto rischio. Le percentuali non adattate di rischio assoluto di malattia sono riportate complessivamente nella Tabella 30b e per gruppo di età nella Tabella 31.

Tabella 30a: Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: rischio assoluto di ≥CIN2 e ≥CIN3 per i risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay e dell'Aptima HPV assay (stime adattate per il bias di verifica)

Risultato dell'Aptima HPV Assay	Risultato dell'AHPV-GT Assay	Interpretazione	≥CIN2	≥CIN3
			Rischio assoluto (CI al 95%)	Rischio assoluto (CI al 95%)
Positivo	Pos HPV 16 e/o Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e/o HPV 18/45	9,7 (4,6, 20,2)	8,5 (3,8, 19,2)
	Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	Solo Pos HPV 16	10,4 (4,0, 27,1)	10,3 (3,9, 27,1)
	Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	Solo Pos HPV 18/45	8,8 (2,9, 26,4)	6,5 (1,7, 25,1)
	Pos HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e 18/45	0,0	0,0
	Neg HPV 16/18/45	Pos altri HPV HR	3,2 (1,6, 6,3)	1,8 (0,6, 4,9)
	Pos o Neg	Pos HPV HR	4,6 (2,8, 7,4)	3,2 (1,7, 5,9)
Negativo	Neg HPV 16/18/45*	Neg HPV HR	0,7 (0,2, 2,5)	0,2 (0,0, 4,8)
		Prevalenza	1,1%	0,8%

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, HR = alto rischio, Pos = positivo, Neg = negativo, N/P = non pertinente
*Le donne con risultati negativi per l'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay per lo scopo dell'analisi.

Tabella 30b: Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: rischio assoluto di ≥CIN2 e ≥CIN3 per i risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay e dell'Aptima HPV assay (stime non adattate)

Risultato dell'Aptima HPV Assay	Risultato dell'AHPV-GT Assay	Interpretazione	≥CIN2	≥CIN3
			Rischio assoluto (CI al 95%)	Rischio assoluto (CI al 95%)
Positivo	Pos HPV 16 e/o Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e/o HPV 18/45	10,8 (7/65) (5,1, 17,7)	9,2 (6/65) (4,3, 14,2)
	Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	Solo Pos HPV 16	12,5 (4/32) (3,7, 25,2)	12,5 (4/32) (3,9, 23,1)
	Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	Solo Pos HPV 18/45	9,4 (3/32) (2,2, 21,8)	6,3 (2/32) (0,9, 16,8)
	Pos HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e 18/45	0,0 (0/1) (0,0, 93,5)	0,0 (0/1) (0,0, 93,4)
	Neg HPV 16/18/45	Pos altri HPV HR	3,6 (7/194) (1,7, 6,0)	2,1 (4/194) (0,7, 3,9)
	Pos o Neg	Pos HPV HR	5,4 (14/259) (3,7, 6,8)	3,9 (10/259) (2,6, 4,5)
Negativo	Neg HPV 16/18/45*	Neg HPV HR	1,1 (6/549) (0,5, 1,9)	0,2 (1/549) (0,0, 0,8)
		Prevalenza	2,5% (20/808)	1,4% (11/808)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, HR = alto rischio, Pos = positivo, Neg = negativo, N/P = non pertinente
*Le donne con risultati negativi per l'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay per lo scopo dell'analisi.

Tabella 31: Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: rischio assoluto di ≥CIN2 e ≥CIN3 per i risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay e dell'Aptima HPV assay per gruppo di età (stime non adattate)

	Risultato dell'Aptima HPV Assay	Risultato dell'AHPV-GT Assay	Interpretazione	≥CIN2	≥CIN3
				Rischio assoluto (CI al 95%)	Rischio assoluto (CI al 95%)
Da 30 a 39 anni	Positivo	Pos HPV 16 e/o Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e/o HPV 18/45	8,1 (3/37) (2,0, 16,4)	5,4 (2/37) (0,9, 12,3)
		Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	Solo Pos HPV 16	0 (0/17) (0,0, 15,5)	0 (0/17) (0,0, 14,3)
		Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	Solo Pos HPV 18/45	15,0 (3/20) (3,9, 30,6)	10,0 (2/20) (1,0, 22,8)
		Pos HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e 18/45	N/P (0/0)	N/P (0/0)
		Neg HPV 16/18/45	Pos altri HPV HR	3,6 (4/111) (1,2, 6,2)	2,7 (3/111) (0,7, 4,7)
		Pos o Neg	Pos HPV HR	4,7 (7/148) (2,6, 6,1)	3,4 (5/148) (1,6, 4,3)
	Negativo	Neg HPV 16/18/45*	Neg HPV HR	0,9 (2/230) (0,1, 2,2)	0,4 (1/230) (0,0, 1,6)
	Prevalenza			2,4% (9/378)	1,6% (6/378)
≥ 40 anni	Positivo	Pos HPV 16 e/o Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e/o HPV 18/45	14,3 (4/28) (4,8, 26,4)	14,3 (4/28) (5,0, 21,9)
		Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	Solo Pos HPV 16	26,7 (4/15) (6,4, 47,9)	26,7 (4/15) (6,5, 43,1)
		Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	Solo Pos HPV 18/45	0 (0/12) (0,0, 21,5)	0 (0/12) (0,0, 18,6)
		Pos HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos HPV 16 e 18/45	0,0 (0/1) (0,0, 93,4)	0,0 (0/1) (0,0, 93,1)
		Neg HPV 16/18/45	Pos altri HPV HR	3,6 (3/83) (1,0, 7,8)	1,2 (1/83) (0,0, 4,1)
		Pos o Neg	Pos HPV HR	6,3 (7/111) (3,3, 8,9)	4,5 (5/111) (2,3, 5,4)
	Negativo	Neg HPV 16/18/45*	Neg HPV HR	1,3 (4/319) (0,4, 2,3)	0 (0/319) (0,0, 0,8)
	Prevalenza			2,6% (11/430)	1,2% (5/430)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay, HR = alto rischio, Pos = positivo, Neg = negativo, N/P = non pertinente
*Le donne con risultati negativi per l'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay per lo scopo dell'analisi.

Le percentuali di rischio relativo di malattia per i risultati positivi rispetto ai risultati negativi dell'Aptima 16 18/45 Genotype assay sono riportate nella Tabella 32 (stime adattate per il bias di verifica) e nella Tabella 33 (stime non adattate). Nelle donne in cui è stata riscontrata la presenza dell'HPV di tipo 16, 18 e/o 45, la probabilità di avere una diagnosi ≥CIN2 è stata 12,7 volte maggiore e la probabilità di avere una diagnosi ≥CIN3 è stata 18,4 volte maggiore rispetto alle donne in cui non è stato riscontrato alcun tipo di HPV ad alto rischio. Nelle donne in cui è stata riscontrata la presenza dell'HPV di tipo 16, 18 e/o 45, la probabilità di avere una diagnosi ≥CIN2 è stata 2,9 volte maggiore e la probabilità di avere una diagnosi ≥CIN3 è stata 3,8 volte maggiore rispetto alle donne in cui sono stati riscontrati uno o più degli altri 11 tipi di HPV ad alto rischio.

Tabella 32: Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: rischio relativo di ≥CIN2 e ≥CIN3 per i risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay e dell'Aptima HPV assay (stime adattate per il bias di verifica)

Interpretazione del test Aptima Assay*	**≥CIN2**	**≥CIN3**
	Rischio relativo (CI al 95%)	**Rischio relativo (CI al 95%)**
Pos HPV 16 e/o 18/45 rispetto a Neg HPV HR	12,9 (3,1, 54,6)	53,3 (1,5, >999)
Pos HPV 16 e/o 18/45 rispetto a Pos altri HPV HR	3,0 (1,1, 8,8)	4,8 (1,2, 19,2)
Pos altri HPV HR rispetto a Neg HPV HR	4,3 (1,2, 15,1)	11,0 (0,4, 289,2)
Pos HPV HR rispetto a Neg HPV HR	6,1 (1,8, 21,0)	20,2 (0,7, 567,7)
Prevalenza	1,1%	0,8%

CI = intervallo di confidenza, HR = alto rischio, Pos = positivo, Neg = negativo
*Le donne con risultati negativi per l'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay per lo scopo dell'analisi.

Tabella 33: Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: rischio relativo di ≥CIN2 e ≥CIN3 per i risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay e dell'Aptima HPV assay (stime non adattate)

Interpretazione del test Aptima Assay*	**≥CIN2**	**≥CIN3**
	Rischio relativo (CI al 95%)	**Rischio relativo (CI al 95%)**
Pos HPV 16 e/o 18/45 rispetto a Neg HPV HR	9,9 (3,4, 28,4)	50,7 (6,2, 414,4)
Pos HPV 16 e/o 18/45 rispetto a Pos altri HPV HR	3,0 (1,1, 8,2)	4,5 (1,3, 15,4)
Pos altri HPV HR rispetto a Neg HPV HR	3,3 (1,1, 9,7)	11,3 (1,3, 100,7)
Pos HPV HR rispetto a Neg HPV HR	4,9 (1,9, 12,7)	21,2 (2,7, 164,7)
Prevalenza	2,5% (20/808)	1,4% (11/808)

CI = intervallo di confidenza, HR = alto rischio, Pos = positivo, Neg = negativo
*Le donne con risultati negativi per l'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay per lo scopo dell'analisi.

I rapporti di verosimiglianza (≥CIN2 e ≥CIN3) deducibili dal risultato dell'Aptima 16 18/45 Genotype assay sono riportati nella Tabella 34 (stime adattate per il bias di verifica) e nella Tabella 35 (stime non adattate). L'HPV di tipo 16, 18 e/o 45 è stato riscontrato con una probabilità 17,1 volte superiore in una donna con ≥CIN2 e 21,9 volte superiore in una donna con ≥CIN3.

Tabella 34: Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: rapporti di verosimiglianza per ≥CIN2 e ≥CIN3 in base ai risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay e dell'Aptima HPV assay (stime adattate per il bias di verifica)

Interpretazione dei risultati dell'Aptima Assay*	≥CIN2	≥CIN3
	Rapporto di verosimiglianza (CI al 95%)	Rapporto di verosimiglianza (CI al 95%)
Positivo all'HPV 16 e/o 18/45	11,2 (3,3, 38,4)	24,1 (2,6, 225,9)
Positivo agli altri HPV HR	3,5 (1,3, 9,4)	4,7 (0,7, 29,8)
Negativo all'HPV HR	0,8 (0,6, 1,1)	0,4 (0,1, 2,2)

CI = intervallo di confidenza, HR = alto rischio
*Le donne con risultati negativi per l'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay per lo scopo dell'analisi.

Tabella 35: Popolazione NILM di età pari o superiore a 30 anni: rapporti di verosimiglianza per ≥CIN2 e ≥CIN3 in base ai risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay e dell'Aptima HPV assay (stime non adattate)

Interpretazione dei risultati dell'Aptima Assay*	≥CIN2	≥CIN3
	Rapporto di verosimiglianza (CI al 95%)	Rapporto di verosimiglianza (CI al 95%)
Positivo all'HPV 16 e/o 18/45	4,8 (2,1, 8,5)	7,4 (3,3, 12,0)
Positivo agli altri HPV HR	1,5 (0,7, 2,5)	1,5 (0,5, 2,9)
Negativo all'HPV HR	0,4 (0,2, 0,8)	0,1 (0,0, 0,6)

CI = intervallo di confidenza, HR = alto rischio
*Le donne con risultati negativi per l'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay per lo scopo dell'analisi.

Prestazioni cliniche dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay con campioni per citologia in fase liquida SurePath

I campioni per citologia in fase liquida SurePath sono stati raccolti da donne canadesi a cui era stato richiesto un follow-up a causa di uno o più Pap test anomali, un'infezione da HPV o altri motivi. Un'aliquota (0,5 ml) di ciascun campione è stata trasferita all'interno di una provetta di trasporto del campione Aptima per poi essere trattata con la soluzione di trasporto Aptima. Un singolo replicato di ciascun campione è stato analizzato con l'Aptima HPV assay (n = 481). I campioni positivi sono stati quindi analizzati con l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay e con l'Aptima HPV assay. I risultati sono riportati nella Tabella 36. Risultati simili sono riportati per il test per l'HPV basato sulla PCR disponibile in commercio, che distingue l'HPV 16 e l'HPV 18, ma non l'HPV 45, separatamente dagli altri genotipi ad alto rischio. Il rischio relativo di malattia per i risultati positivi del genotipo rispetto ai risultati negativi è riportato nella Tabella 37 per l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay e per il test per l'HPV basato sulla PCR.

Tabella 36: Rischio assoluto di ≥CIN3 per i risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay e per un test per l'HPV basato sulla PCR disponibile in commercio

Risultato HPV HR	Risultato genotipo	Interpretazione	Rischio assoluto ≥CIN3 Aptima (CI al 95%)	Rischio assoluto ≥CIN3 HPV PCR (CI al 95%)
Positivo	Pos HPV 16 e/o Pos HPV 18/45*	Pos HPV 16 e/o Pos HPV 18/45*	12,5 (7,6-17,3)	14,4 (10,4-18,1)
	Pos HPV 16 e Neg HPV 18/45*	Solo Pos HPV 16	16,4 (9,2-23,9)	16,8 (11,6-21,9)
	Neg HPV 16 e/o Pos HPV 18/45*	Solo Pos HPV 18/45*	3,3 (0,1-13,2)	7,1 (1,0-18,8)
	Pos HPV 16 e/o Pos HPV 18/45*	Pos HPV 16 e Pos HPV 18/45*	33,3 (1,8-83,7)	14,3 (0,7-49,9)
	Neg HPV 16 e/o Neg HPV 18/45*	Pos altri HPV HR	2,0 (1,0-3,1)	2,1 (1,1-3,3)
	Pos o Neg	Pos HPV HR	10,2 (8,4-11,7)	8,5 (7,0-9,5)
Negativo**	Neg HPV 16 e/o Neg HPV 18/45*	Neg HPV HR	1,0 (0,2-2,4)	1,1 (0,3-2,8)
		Prevalenza (%)	4,0%	5,0%

HR = alto rischio; Pos = positivo; Neg = negativo

*Il test per l'HPV basato sulla PCR distingue solo l'HPV 16 e l'HPV 18 dagli altri 12 genotipi ad alto rischio, incluso l'HPV 45.

**Le donne con risultati negativi per l'Aptima HPV assay sono state designate come negative all'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay per lo scopo dell'analisi.

Tabella 37: Rischio relativo di ≥CIN3 per i risultati dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay e per un test per l'HPV basato sulla PCR disponibile in commercio

Risultati dell'Aptima assay		Risultati del test per l'HPV basato sulla PCR	
Interpretazione del test	Rischio relativo ≥CIN3 (CI al 95%)	Interpretazione del test	Rischio relativo ≥CIN3 (CI al 95%)
Positivo all'HPV 16 e/o 18/45 rispetto a negativo all'HPV HR	13,1 (3,7-45,9)	Positivo all'HPV 16 e/o 18/45 rispetto a negativo all'HPV HR	12,6 (3,8-41,9)
Positivo all'HPV 16 e/o 18/45 rispetto a positivo agli altri HPV HR	2,0 (0,7-5,4)	Positivo all'HPV 16 e/o 18/45 rispetto a positivo agli altri HPV HR	3,9 (1,6-9,5)
Positivo agli altri HPV HR rispetto a negativo all'HPV HR	6,6 (1,6-27,1)	Positivo agli altri HPV HR rispetto a negativo all'HPV HR	3,2 (0,8-12,8)
Positivo all'HPV HR rispetto a Negativo all'HPV HR	10,7 (3,3-35,1)	Positivo all'HPV HR rispetto a Negativo all'HPV HR	7,4 (2,3-24,3)
Prevalenza	4,0%	Prevalenza	5,0%

Prestazioni cliniche dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay con campioni prelevati con il kit di raccolta e trasporto dei campioni cervicali

Le prestazioni dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay sono state valutate utilizzando campioni CSCT prelevati da donne sottoposte a visita di controllo per un risultato anomalo del Pap test. I campioni sono stati analizzati inizialmente con l'Aptima HPV assay (n = 651). I campioni con un risultato positivo per l'Aptima HPV assay (n = 414) sono stati analizzati successivamente con l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay sia sul Tigris DTS System che sul Panther System.

La concordanza clinica dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay per il rilevamento dell'HPV 16, 18 e 45 ad alto rischio è stata determinata per il Panther System utilizzando come metodo di riferimento il risultato del Tigris DTS System. Sono stati calcolati i valori percentuali di concordanza positivi e negativi e i relativi intervalli di confidenza del punteggio al 95%. I risultati sono riportati nella Tabella 38.

Tabella 38: Concordanza clinica dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay sul Panther System per il rilevamento dell'HPV 16, 18 e 45 ad alto rischio in campioni CSCT

		Risultato relativo al Tigris DTS System				Totale
		Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	Pos HPV 16, Pos HPV 18/45	Neg HPV 16, Neg HPV 18/45	
Risultato relativo al Panther System	Pos HPV 16, Neg HPV 18/45	194	0	1	3	198
	Neg HPV 16, Pos HPV 18/45	0	34	0	0	34
	Pos HPV 16, Pos HPV 18/45	0	0	7	0	7
	Neg HPV 16, Neg HPV 18/45	1	1	0	173	175
	Totale	195	35	8	176	414

Pos = positivo, Neg = negativo

Concordanza positiva: 98,7% (235 su 238) (CI al 95%: 96,4, 99,6)

Concordanza negativa: 98,3% (173 su 176) (CI al 95%: 95,1, 99,4)

Sensibilità analitica

Il limite di rilevamento (Limit of Detection, LOD) al cutoff clinico è una concentrazione che risulta positiva (al di sopra del cutoff clinico) nel 95% dei casi. Il LOD dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay è stato determinato analizzando singolarmente o in pool i campioni clinici per citologia in fase liquida ThinPrep negativi addizionati con trascritti *in vitro* di HPV o con cellule in coltura infettate da HPV (SiHa, HeLa e MS751; ATCC, Manassas, Virginia) a varie concentrazioni. Per i pannelli dei trascritti *in vitro*, sono stati analizzati 60 replicati di ciascun livello di copie con ciascuno dei due lotti di reagenti, per un totale di 120 replicati. Per i pannelli delle linee cellulari, sono stati analizzati 30 replicati per ciascun livello di copie con ciascuno dei due lotti di reagenti, per un totale di 60 replicati. Le analisi sono state eseguite nell'arco di otto giorni con un minimo di tre sessioni analitiche al giorno e cinque replicati per un determinato genotipo analizzati in ciascuna sessione. Il limite di rilevamento al 95% (Tabella 39) è stato calcolato dall'analisi della regressione probit dei risultati di positività per ciascun pannello di diluizione.

Tabella 39: Limite di rilevamento al cutoff clinico dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay

Target	Limite di rilevamento* (CI al 95%)
HPV 16	23,7 (19,1, 30,9)
HPV 18	26,1 (21,2, 33,9)
HPV 45	34,5 (28,5, 43,6)
SiHa	0,4 (0,3, 0,7)
HeLa	0,7 (0,4, 1,4)
MS751	0,2 (0,1, 0,3)

*Copie per reazione per trascritti *in vitro* e cellule per reazione per linee cellulari

Precisione del test

La precisione dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay è stata valutata in due studi utilizzando lo stesso pannello da 24 elementi. Lo studio 1 è stato condotto in 3 centri di analisi esterni per determinare la riproducibilità del test. Lo studio 2 è stato condotto internamente per determinare la precisione all'interno del laboratorio. Il pannello comprendeva 17 elementi positivi all'HPV 16 e/o 18/45 con concentrazioni pari o superiori al limite di rilevamento del test (positività attesa: ≥ 95%), 3 elementi positivi all'HPV 16 e/o 18/45 con concentrazioni inferiori al limite di rilevamento del test (positività attesa: da > 0% a < 25%) e 4 elementi negativi all'HPV. Gli elementi del pannello positivi all'HPV 16 e/o 18/45 sono stati preparati addizionando un trascritto *in vitro* o cellule in coltura infette da HPV (SiHa, HeLa e MS751; ATCC, Manassas, Virginia) a pool di campioni residui per citologia in fase liquida ThinPrep, oppure diluendo i campioni clinici di HPV 16, 18 e/o 45 in pool di campioni residui per citologia in fase liquida ThinPrep. Gli elementi del pannello negativi all'HPV sono stati preparati con pool di campioni per citologia in fase liquida ThinPrep o soluzione PreservCyt.

Nello studio 1, 2 operatori in ciascuno dei 3 centri di analisi (1 strumento per centro) hanno eseguito 2 liste di lavoro dell'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay al giorno nell'arco di 3 giorni. L'analisi è stata eseguita utilizzando 2 lotti di reagenti. Ogni lista di lavoro conteneva 3 replicati per ciascuno degli elementi del pannello di riproducibilità. Per ciascun elemento del pannello sono state analizzate centootto (108) singole provette di campione (3 centri x 1 strumento x 2 operatori x 2 lotti x 3 giorni x 3 replicati). Nello studio 2, l'analisi è stata condotta internamente nell'arco di 13 giorni per un totale di 162 reazioni analizzate per ciascun elemento del pannello (1 centro x 3 strumenti x 3 operatori x 3 lotti x 2 liste di lavoro x 3 replicati).

Gli elementi del pannello sono descritti nella Tabella 40a e nella Tabella 40b, insieme a un riepilogo della concordanza con i risultati attesi rispettivamente per l'HPV 16 e l'HPV 18/45.

Tabella 40a: Studio di precisione 1 e 2 per l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay: descrizione del pannello e concordanza percentuale con risultati attesi per l'HPV 16

Descrizione del pannello (copie o cellule/reazione)	HPV 16 Risultati attesi	Concordanza percentuale (CI al 95%)	
		Studio 1 (3 centri di analisi)	Studio 2 (1 centro di analisi)
IVT HPV 16 (240 copie)	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
IVT HPV 18 (260 copie)	Negativo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
IVT HPV 45 (350 copie)	Negativo	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Campione clinico 1 HPV 16	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Campione clinico 1 HPV 18/45	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
Cellule SiHa (4 cellule) e cellule HeLa (0,7 cellule)	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Cellule SiHa (0,4 cellule) e cellule HeLa (7 cellule)	Positivo	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	97,5 (158/162) (94,0, 99,1)
Cellule SiHa (0,4 cellule)	Positivo	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	97,5 (158/162) (94,0, 99,1)
Cellule HeLa (0,7 cellule)	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Cellule MS751 (0,2 cellule)	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (158/159) (96,5, 99,9)
IVT HPV 16 (24 copie)	Positivo	100 (107/107) (96,5, 100)	96,9 (157/162) (93,2, 98,7)
IVT HPV 18 (26 copie)	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
IVT HPV 45 (35 copie)	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Campione clinico 2 HPV 16	Positivo	98,1 (105/107) (93,4, 99,5)	98,8 (160/162) (95,7, 99,7)
Campione clinico 3 HPV 16	Positivo	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	97,5 (158/162) (94,0, 99,1)
Campione clinico 2 HPV 18/45	Negativo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Campione clinico 3 HPV 18/45	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Cellule SiHa (0,001 cellule)	Negativo	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,1 (158/161) (94,8, 99,4)
Cellule HeLa (0,001 cellule)	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Cellule MS751 (0,006 cellule)	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Campione clinico 1 negativo all'HPV	Negativo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Campione clinico 2 negativo all'HPV	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
PreservCyt 1 negativo all'HPV	Negativo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
PreservCyt 2 negativo all'HPV	Negativo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)

CI = intervallo di confidenza per il punteggio

Nota - *la concordanza percentuale può essere stata influenzata dalle variazioni nell'aggiunta, nella diluizione e/o nella suddivisione in aliquote.*

Tabella 40b: Studio di precisione 1 e 2 per l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay: descrizione del pannello e concordanza percentuale con risultati attesi per l'HPV 18/45

Descrizione del pannello (copie o cellule/reazione)	Concordanza percentuale (CI al 95%)		
	HPV 18/45 Risultati attesi	Studio 1 (3 centri di analisi)	Studio 2 (1 centro di analisi)
IVT HPV 16 (240 copie)	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
IVT HPV 18 (260 copie)	Positivo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
IVT HPV 45 (350 copie)	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Campione clinico 1 HPV 16	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Campione clinico 1 HPV 18/45	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
Cellule SiHa (4 cellule) e cellule HeLa (0,7 cellule)	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Cellule SiHa (0,4 cellule) e cellule HeLa (7 cellule)	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Cellule SiHa (0,4 cellule)	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Cellule HeLa (0,7 cellule)	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Cellule MS751 (0,2 cellule)	Positivo	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	88,7 (141/159) (84,5, 93,5)
IVT HPV 16 (24 copie)	Negativo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
IVT HPV 18 (26 copie)	Positivo	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
IVT HPV 45 (35 copie)	Positivo	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
Campione clinico 2 HPV 16	Negativo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Campione clinico 3 HPV 16	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Campione clinico 2 HPV 18/45	Positivo	100 (107/107) (96,5, 100)	95,7 (155/162) (91,7, 98,0)
Campione clinico 3 HPV 18/45	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
Cellule SiHa (0,001 cellule)	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
Cellule HeLa (0,001 cellule)	Negativo	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
Cellule MS751 (0,006 cellule)	Negativo	75,0 (81/108) (66,1, 82,2)	88,3 (143/162) (84,2, 93,2)
Campione clinico 1 negativo all'HPV	Negativo	99,1 (106/107) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
Campione clinico 2 negativo all'HPV	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
PreservCyt 1 negativo all'HPV	Negativo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
PreservCyt 2 negativo all'HPV	Negativo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)

CI = intervallo di confidenza per il punteggio
Nota - *la concordanza percentuale può essere stata influenzata dalle variazioni nell'aggiunta, nella diluizione e/o nella suddivisione in aliquote.*

Reattività crociata

L'analisi con gli organismi potenzialmente cross-reattivi per l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay è stata eseguita con il Tigris DTS System. Per i risultati consultare il paragrafo *Reattività crociata* (Tabella 20) nella sezione relativa al Tigris DTS System.

Interferenza

L'analisi con le sostanze potenzialmente interferenti per l'Aptima HPV 16 18/45 Genotype assay è stata eseguita con il Tigris DTS System. Per i risultati consultare il paragrafo *Interferenza* (Tabella 21) nella sezione relativa al Tigris DTS System.

Bibliografia

1. **Walboomers, J. M., M.V. Jacobs, M.M. Manos, F.X. Bosch, J.A. Kummer, K.V. Shah, P.J. Snijders, J. Peto, C. J. Meijer, N. Muñoz.** 1999. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. J Pathol. 189:12-19.
2. **Li N., Franceschi S., Howell-Jones R., Snijders P.J.F., Clifford G.M.** Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: Variation by geographical region, histological type and year of publication. Int J Cancer. 2011;128: 927-935. doi 10.1002/ijc.25396
3. **Czegledy J., C. Losif, B.G. Hansson, M. Evander, L. Gergely, and G. Wadell.** 1995. Can a test for E6/E7 transcripts of human papillomavirus type 16 serve as a diagnostic tool for the detection of micrometastasis in cervical cancer? Int J Cancer. 64(3):211-5.
4. **Doorbar, J.** 2006. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. Clin Sci (Lond). 110(5):525-41.
5. **Burd, E.M.** 2003. Human papillomavirus and cervical cancer. Clin Microbiol Rev. 16(1):1-17.
6. **Lambert P.F., H. Pan, H.C. Pitot, A. Liem, M. Jackson, and A.E. Griep.** 1993. Epidermal cancer associated with expression of human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncogenes in the skin of transgenic mice. Proc Natl Acad Sci U S A. 90(12):5583-7.
7. **Kjaer S.K., A.J.C. van den Brule, G., Paull, E.I. Svare, M.E. Sherman, B.L. Thomsen, M. Suntum, J.E. Bock, P.A. Poll, and C.J.L.M. Meijer.** 2002. Type specific persistence of high risk human papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: population based prospective follow up study. BMJ. 325(7364): 572-579.
8. **Monsonego J., F.X. Bosch, P. Coursaget, J.T. Cox, E. Franco, I. Frazer, R. Sankaranarayanan, J. Schiller, A. Singer, T.C. Wright Jr, W. Kinney, C.J. Meijer, J. Linder, E. McGoogan, and C. Meijer.** 2004. Cervical cancer control, priorities and new directions. Int J Cancer. 108(3):329-33. Erratum in: Int J Cancer. 108(6):945.
9. **Cuschieri, K.S., M.J. Whitley, H.A. Cubie.** 2004. Human papillomavirus type specific DNA and RNA persistence--implications for cervical disease progression and monitoring. J. Med. Virol. 73(1): 65-70.
10. **De Sanjose S., et al.** 2010. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. The Lancet. DOI 10.1016/S1470-2045(10)70230-8.
11. **Burger R.A., B. J. Monk, T. Kurosaki, H. Anton-Culver, S. Vasilv, M. L. Berman and S.P. Wilczynski.** 1996. Human Papillomavirus Type 18: Association with poor prognosis in early stage cervical cancer. J. Nat. Cancer institute. 88(19): 1361-1368.
12. **Safaeian M., M. Schiffman, J. Gage, D. Solomon, C. Wheeler and P. Castle.** 2009. Detection of Precancerous Cervical Lesions Is Differential by Human Papillomavirus Type. Cancer Res. 69(8): 3262-3266.
13. **Khan, M.J., P.E. Castle, A.T. Lorincz, S. Wacholder, M. Sherman, D.R. Scott, B.B. Rush, A.G. Glass and M. Schiffman.** 2005. The elevated 10-year risk of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in clinical practice. J. Natl. Cancer Inst. 97(14): 1072-1079.
14. **ASCCP: American Society for Colposcopy and Cervical Pathology.** HPV Genotyping Clinical Update. 2009. http://www.asccp.org/Portals/9/docs/pdfs/Consensus%20Guidelines/clinical_update_20090408.pdf. Accessed March 22, 2012.
15. **Wright T.C., S. Massad, C. J. Dunton, M. Spitzer, E.J. Wilkinson and D. Solomon.** 2007. 2006 Consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical screening tests. Journal of Lower Genital Tract Disease. 11(4):201-222.
16. **Kacian, D.L. and T.J. Fultz.** 1995. Nucleic acid sequence amplification methods. U. S. Patent 5,399,491.
17. **Arnold, L. J., P. W. Hammond, W. A. Wiese, and N. C. Nelson.** 1989. Assay formats involving acridinium-ester-labeled DNA probes. Clin Chem. 35: 1588-1594.
18. **Nelson, N.C., A. BenCheikh, E. Matsuda, and M. Becker.** 1996. Simultaneous detection of multiple nucleic acid targets in a homogeneous format. Biochem. 35:8429-8438.
19. **Datta, S. D., L. A. Koutsky, S. Ratelle, E. R. Unger, J. Shlay, T. McClain, B. Weaver, P. Kerndt, J. Zenilman, M. Hagensee, C. J. Suhr, and H. Weinstock.** 2008. Human Papillomavirus Infection and Cervical Cytology in Women Screened for Cervical Cancer in the United States, 2003–2005. Annals Int Med. **148**:493.
20. **Clifford, G.M., S. Gallus, R. Herrero, N. Muñoz, P. J. F. Snijders, S. Vaccarella, P. T. H. Anh, C. Ferreccio, N. T. Hieu, E. Matos, M. Molano, R. Rajkumar, G. Ronco, S. de Sanjosé, H. R. Shin, S. Sukvirach, J. O. Thomas, S. Tunsakul, C. J. L. M. Meijer, S. Franceschi, and the IARC HPV Prevalence Surveys Study Group.** Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled Analysis. 2005. The Lancet. **366**, 991.
21. **Stoler, M.H., T.C. Wright, Jr., J. Cuzick, J. Dockter, J. Reid, D. Getman, C. Giachetti.** Aptima HPV assay performance in women with atypical squamous cells of undetermined significance cytology results. 2013. American Journal of Obstetrics & Gynecology. **208(2)**:144-145.

Hologic, Inc.
10210 Genetic Center Drive
San Diego, CA 92121 USA

Assistenza clienti: +1 844 Hologic (+1 844 465 6442)
customersupport@hologic.com

Assistenza tecnica: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

Per ulteriori informazioni di contatto visitare il sito www.hologic.com.

EMERGO EUROPE
Molenstraat 15
2513 BH The Hague
Paesi Bassi

Questo prodotto è destinato esclusivamente all'uso nel campo della diagnostica umana *in vitro*.

Hologic, Aptima, DTS, Panther, PreservCyt, ThinPrep e Tigris sono marchi commerciali e/o marchi commerciali registrati di Hologic, Inc. e/o delle aziende consociate negli Stati Uniti e/o in altri paesi.

RAININ è un marchio commerciale della Rainin Instruments, LLC.

SUREPATH e PREPSTAIN sono marchi commerciali di TriPath Imaging, Inc.

Tutti gli altri marchi commerciali che possono apparire in questo foglietto illustrativo appartengono ai rispettivi proprietari.

© 2007-2015 Hologic, Inc. Tutti i diritti riservati.
AW-11504-701 Rev. 002 (IT)

2015-02